

VALMIR KOWALEWSKI DE SOUZA

**CISTICERCOSE BOVINA:
ESTUDO PARASITOLÓGICO E SOROLÓGICO
NO ESTADO DO PARANÁ - BRASIL**

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias
Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,
Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do
Paraná.

Orientadora: Prof.^ª Dr.^ª Vanete Thomaz Soccol

CURITIBA

2002



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação do Candidato ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária **VALMIR KOWALEWSKI DE SOUZA** após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

- 1) A Tese, intitulada **“Cisticercose Bovina: Estudo Parasitológico e Sorologia no Estado do Paraná - Brasil”** foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.
- 2) O Candidato se houve muito bem durante a Defesa de Dissertação, respondendo a todas as questões que foram colocadas.

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pelo Candidato, atribuiu o conceito “A” concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária.

Curitiba, 05 de março de 2002.

Profa. Dra. VANETE THOMAZ SOCCOL
Presidente/Orientador

Dr. NILCEU LEMOS
Membro

Prof. Dr. PAULO ROSSI JÚNIOR
Membro

DEDICATÓRIA

A Deus pela saúde concedida e pelos caminhos iluminados.

À minha esposa Belkys pela paciência, apoio e carinho demonstrados e às minhas filhas Fabíola, Cinthia e Juliana pela alegria e otimismo transmitido.

AGRADECIMENTOS

À professora Dr^a Vanete Thomas Soccol pela orientação recebida e por plantar a semente deste trabalho para que pudesse dar os primeiros passos em direção à pesquisa.

Ao amigo de todas as horas, médico veterinário Luis A. M. Gasparetto, pela generosidade em compartilhar e dar-me o estímulo necessário nos momentos difíceis.

Ao médico veterinário Rubens L. F. Gusso pelas orientações, apoio e amizade demonstrada ao longo dos trabalhos.

Ao médico veterinário Ângelo Setim Neto, Diretor do Frigorífico Argus, SIF 1710, pelo apoio e por propiciar condições para a realização desta pesquisa.

Às acadêmicas e hoje profissionais da Medicina Veterinária, Michele de L. Kowalczyk e Simone Marty pela efetiva cooperação, amizade e apoio irrestrito em todos os momentos da pesquisa.

Aos funcionários do SIF 1710 e do Frigorífico Argus pela cooperação prestada.

Ao médico veterinário Oscar Lago Pessoa, Técnico do LACEN-SESA-PR, por todo o apoio operacional e técnico prestado ao longo dos trabalhos.

À professora e colega médica veterinária Claudia T. Pimpão pelas análises estatísticas realizadas.

Às acadêmicas de Medicina Veterinária da PUC-PR, Rafaella, Milena, Melissa e Juliane pelo auxílio prestado nos exames parasitológicos.

À coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFPR pela compra do conjugado utilizado no teste Elisa.

À Direção do LACEN-SESA-PR pelos antígenos e laboratórios cedidos para a realização da presente pesquisa.

À Direção e aos funcionários da PUC-PR, Curso de Medicina Veterinária, Campus São José dos Pinhais, pela cessão dos laboratórios e apoio técnico.

Ao médico veterinário João Carlos Minozzo pelas orientações técnicas.

Ao meu cunhado Ciro Bacilla pelo apoio técnico e operacional na formatação e apresentação informatizada da dissertação.

A todos os colegas Médicos Veterinários do SIPA-DFA-PR pelo apoio recebido.

A todas as pessoas e entidades não citadas nominalmente que contribuíram de alguma forma para a realização desta pesquisa.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	Vi
LISTA DE FIGURAS.....	Vii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	Viii
RESUMO.....	Ix
SUMARY.....	Xi
 1. INTRODUÇÃO.....	 01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	06
2.1 TENIOSE HUMANA.....	07
2.2 OVOS NO AMBIENTE.....	09
2.3 CISTICERCOSE ANIMAL.....	10
2.4 CISTICERCOSE HUMANA.....	14
2.4.1 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA.....	14
2.4.2 DISTRIBUIÇÃO E FREQUÊNCIA.....	15
2.4.3 MODOS DE TRANSMISSÃO.....	17
2.4.4 FATORES RELACIONADOS COM A ENFERMIDADE.....	17
2.4.5 SINTOMATOLOGIA CLÍNICA.....	20
2.4.6 DIAGNÓSTICO.....	22
2.4.7 TRATAMENTO.....	24
2.4.8 MEDIDAS GERAIS PARA O CONTROLE.....	24
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1 MATERIAL.....	25
3.1.1 PROCEDÊNCIA DOS ANIMAIS.....	25
3.2 MÉTODOS.....	25
3.2.1 COLHEITA DE CISTICERCOS PARA IDENTIFICAÇÃO.....	25
3.2.2 COLHEITA DE SANGUE E SEPARAÇÃO DO SORO PARA ANÁLISE IMUNOLÓGICA.....	26
3.2.3 GRUPO CONTROLE.....	26
3.2.4 EXAME PARASITOLÓGICO DOS CISTOS.....	26
3.2.5 FIXAÇÃO, CONSERVAÇÃO E COLORAÇÃO DOS CISTICERCOS.....	27
3.2.6 LEITURA EM MICROSCOPIA ÓPTICA.....	27
3.3 MÉTODO DE ELISA (ENZIME-LINKED-IMMUNOSORBENT-ASSAY) PARA PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI- <i>Cysticercus bovis</i>	30
3.3.1 TITULAÇÃO DO CONJUGADO ANTI IgG BOVINO LIGADO COM PEROXIDASE PARA O MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA).....	32
3.3.2 CÁLCULO DO PONTO DE CORTE DO MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO PARA DIAGNÓSTICO DA CISTICERCOSE.....	33
3.3.3 PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO DE ELISA.....	36
3.4 MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	37
3.4.1 MATRIZ PARA CÁLCULO DE INDICADORES DE SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE....	37
4. RESULTADOS.....	39
4.1 RESULTADOS DO ESTUDO PARASITOLÓGICO.....	39
4.1.1 PREVALÊNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA CISTICERCOSE.....	39
4.1.2 LOCALIZAÇÃO ANATÔMICA DOS CISTICERCOS.....	40
4.1.3 DISTRIBUIÇÃO ANATÔMICA DOS CISTICERCOS CONFORME SUA CLASSIFICAÇÃO.....	41
4.1.4 DISTRIBUIÇÃO DOS CISTICERCOS RELACIONADA COM O SEXO DOS ANIMAIS ABATIDOS.....	42
4.1.5 FAIXA ETÁRIA DOS BOVINOS ABATIDOS E A DISTRIBUIÇÃO DE CISTICERCOS.....	43
4.1.6 IDENTIFICAÇÃO PARASITOLÓGICA DOS CISTOS VIVOS.....	43
4.2 RESULTADOS DO MÉTODO DE ELISA.....	44
4.2.1 ESTUDO DOS INDICADORES DOS MÉTODOS IMUNOENZIMÁTICOS DE AMOSTRAS COM DIAGNÓSTICO POSITIVO.....	44
4.2.2 APLICABILIDADE DO MÉTODO DE ELISA PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI- <i>Cysticercus bovis</i> EM BOVINOS CONSIDERADOS PARASITOLÓGICAMENTE NEGATIVOS NA	

INSPEÇÃO PÓS-MORTE.....	47
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	47
4.3.1 ANÁLISE DO QUI-QUADRADO PARASITOLÓGICO.....	47
4.3.2 ANÁLISE DE CORRELAÇÃO DOS RESULTADOS PARASITOLÓGICOS E DO MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA).....	48
5. DISCUSSÃO.....	49
5.1 DISCUSSÃO DO ESTUDO PARASITOLÓGICO.....	49
5.2 DISCUSSÃO DO MÉTODO ELISA.....	55
5.3 DISCUSSÃO ECONÔMICA.....	61
6. CONCLUSÃO.....	63
6.1 CONCLUSÃO DO ESTUDO PARASITOLÓGICO.....	63
6.2 CONCLUSÃO DO MÉTODO ELISA.....	64
GLOSSÁRIO.....	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
ANEXOS	82
ANEXO 1 – FIXAÇÃO, CONSERVAÇÃO E MONTAGEM DE LÂMINAS DE CISTICERCOS.....	82
ANEXO 2 – PREPAROS DOS REAGENTES PARA O MÉTODO ELISA PARA CISTICERCOSE.....	84
ANEXO 3 – REAGENTES, VIDRARIA, EQUIPAMENTOS E MATERIAL COMPLEMENTAR UTILIZADOS NA REALIZAÇÃO DO MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO.....	86
ANEXO 4 – RESULTADO DO MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO EM 28 AMOSTRAS PARA CÁLCULO DO CUT-OFF.....	88
ANEXO 5 – PREVALÊNCIA DA CISTICERCOSE POR MUNICÍPIO NOS ABATES REALIZADOS NO SIF 1710.....	89
ANEXO 6 – RESULTADO DO MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO EM 812 AMOSTRAS DE SORO BOVINO DE ANIMAIS POSITIVOS PARA CISTICERCOSE, ABATIDOS NO SIF 1710.....	92
ANEXO 7– RESULTADO DO MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO DE 80 AMOSTRAS DE SORO BOVINO DO GRUPO TESTEMUNHA.....	110

LISTA DE TABELAS

QUADRO 1.	Prevalência da cisticercose animal no Estado do Paraná no período de 1950 à 1999. Fonte: SIPA-DFA-PR.....	04
QUADRO 2.	Resumo das principais diferenças entre <i>Taenia saginata</i> e <i>Taenia solium</i> . Fonte: LAPAGE, 1981; BORCHERT, 1981; PESSOA e MARTINS, 1988; REY, 1991.....	28
TABELA 1.	Matriz para cálculo de indicadores.....	38
TABELA 2.	Prevalência geral da cisticercose observada nos bovinos inspecionados no SIF 1710 no período de julho a dezembro de 2000. Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	39
TABELA 3.	Localização anatômica e prevalência dos cistos identificados durante o abate dos bovinos no SIF 1710 no período de julho a dezembro de 2000. Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	41
TABELA 4.	Distribuição anatômica dos cistos conforme sua classificação. Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	41
TABELA 5.	Quantidade de bovinos abatidos no período de julho a dezembro de 2000 no SIF 1710 e a distribuição dos cisticercos encontrados por sexo dos animais. Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	42
TABELA 6.	Distribuição de cistos detectados no SIF 1710, no período de julho a dezembro de 2000, conforme a faixa etária dos bovinos abatidos. Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	43
TABELA 7.	Número e percentual de animais testados pelo método imunoenzimático (ELISA), grupo de estudo e grupo controle, com antígeno de <i>Cysticercus longicollis</i> . Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	45
TABELA 8.	Número de animais reagentes e não reagentes, dos grupos de estudo e controle, no método ELISA, utilizando antígeno <i>C. longicollis</i> . Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	45
TABELA 9.	Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos, índice de Youden, concordância e discordância do método imunoenzimático aplicados à mostra de soro bovino de animais com cistos vivos, caseosos, calcificados e total. Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	46
TABELA 10.	Número de animais reagentes e não reagentes, do grupo de estudo no método de ELISA, utilizando antígeno <i>C. longicollis</i> . Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	46
TABELA 11.	Número de animais reagentes e não reagentes dos grupos de estudo e do grupo testemunha, no método ELISA, utilizando <i>C. longicollis</i> . Curitiba, PR, Brasil, 2001.	47
TABELA 12.	Análise do Qui-quadrado para os resultados da classificação parasitológica dos cistos vivos, caseosos e calcificados encontrados nos animais abatidos no SIF 1710, no período de julho a dezembro de 2000. Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	47
TABELA 13.	Teste do Qui-quadrado aplicado aos resultados obtidos, levando em consideração os cisticercos viáveis e inviáveis encontrados nos animais abatidos no SIF 1710, no período de julho a dezembro de 2000. Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	48
TABELA 14.	Prevalência média da cisticercose bovina nos animais inspecionados pelo SIF 1710, no período de julho a dezembro de 2000, no estado do Paraná. Curitiba, PR, Brasil, 2001...	49

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Parasitas adultos. À esquerda <i>Taenia solium</i> e à direita <i>Taenia saginata</i> . Foto cedida pelo Ms. Rubens L.F. Gusso.....	7
FIGURA 2.	Foto de <i>Cysticercus bovis</i> na musculatura cardíaca bovina. Fonte: catálogo de prod. Veter. Ouro Fino Ltda. Ribeirão Preto-SP, 2000.....	12
FIGURA 3.	Escólex de <i>C. bovis</i> obtidos por fotomicrografia na microscopia óptica. Aumento de 100x. Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	29
FIGURA 4.	Escólex de <i>Cysticercus cellulosae</i> obtidos por fotomicrografia na microscopia óptica. Aumento de 100x. Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	29
FIGURA 5.	Método ELISA. a) microplaca sensibilizada com antígeno b) microplaca após reação imunoenzimática visualizando-se orifícios com alteração cromática.....	32
FIGURA 6.	Diferentes cortes discriminatórios entre Testes positivos e negativos.....	35
FIGURA 7.	Curvas de distribuição de freqüência de títulos de pacientes com diagnóstico verdadeiro: A) não infectados e B) infectados	36
FIGURA 8.	Distribuição e prevalência dos cistos encontrados no SIF 1710, no período de julho a dezembro de 2000, por município. Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	40
FIGURA 9.	Resultados obtidos com o método ELISA em soros bovinos positivos para cisticercose no exame pós-morte, visando titulação do conjugado anti IgG bovino com diluição 1:5500 e 1: 6000. Curitiba, PR, Brasil, 2001.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>Cc</i>	- <i>Cysticercus cellulosae</i>
<i>Cb</i>	- <i>Cysticercus bovis</i>
CDC	- Centers Disease Control and Prevention
<i>Cl</i>	- <i>Cysticercus longicollis</i>
CPPI	- Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos
DFA	- Delegacia Federal de Agricultura
DO	- Densidade Óptica
ELISA	- Enzyme Linked Immunosorbent Assay
LACEN	- Laboratório Central do Estado
MAPA	- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NC	- Neurocisticercose
OPD	- Ortofenildiamina
PBS	- “Phosphate Buffer Solution”
RNM	- Ressonância Nuclear Magnética
SEAB	- Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná
SESA	- Secretaria de Estado da Saúde do Paraná
SIF	- Serviço de Inspeção Federal
SIM	- Serviço de Inspeção Municipal
SINAN	- Sistema de Informações de Agravos de Notificação
SIPA	- Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal
SIP	- Serviço de Inspeção do Paraná
SNC	- Sistema Nervoso Central
SUS	- Sistema Único de Saúde
TAC	- Tomografia Axial Computadorizada
UFPR	- Universidade Federal do Paraná

RESUMO

No presente estudo foi analisada a prevalência da cisticercose bovina em 26.633 bovinos no período de julho a dezembro de 2000, no SIF 1710, Frigorífico Argus Ltda, estabelecido no município de São José dos Pinhais, estado do Paraná, Brasil. Os animais eram procedentes de 141 municípios paranaenses. Os dados foram obtidos através dos mapas nosográficos diários de destinação de carcaças dos bovinos, de localização dos cistos, de condenações das vísceras, origem dos bovinos e de um mapa próprio confeccionado e preenchido com dados complementares de interesse do estudo. Observou-se índice de prevalência de cisticercose bovina de 3,82%, sendo que a forma de cistos inviáveis (66,97%) foi superior a forma de cistos viáveis (33,02%), com predileção pelos músculos mastigadores e cardíaco em 97,42% dos casos. De um total de 1.020 animais positivos parasitologicamente para cisticercose, 94% foram de animais monocisticercóticos e 6% de pluricisticercóticos nos exames de inspeção pós-morte de rotina. Dos 141 municípios que forneceram animais para abate no período, o município de Antônio Olinto apresentou o maior índice (27,27%) de casos positivos. Todos os 359 cistos viáveis desinvaginados, submetidos à fixação, coloração e microscopia ótica foram identificados morfológicamente como *C. bovis*. Não foram observados *C. cellulosae* infectando a musculatura bovina. Um teste sorológico para pesquisa de anticorpos anti-*Cysticercus bovis* foi padronizado. Após vários testes com diferentes titulações o método IgG ELISA ficou assim estabelecido: concentração de antígeno de *C. longicollis* de 10 g/ml, titulação do soro bovino de 1:200, diluição do conjugado anti-IgG bovino 1:5500 e Cut-off 0,295. A pesquisa de imunoglobulina g (IgG) anti-*C. bovis* pelo método de ELISA e utilizando o antígeno heterólogo do *C. longicollis*, em 812 amostras (confirmadas positivas para cisticercose pelo exame parasitológico) apresentaram um coeficiente de sensibilidade de 83,62% e especificidade de 92,85%, valor preditivo positivo de 99,70% e índice de Youden de 0,75. O coeficiente de correlação foi de $R = 0,9978$ entre os resultados dos animais parasitologicamente positivos para cisticercose na inspeção pós-morte e o soro dos mesmos submetidos ao método de IgG-ELISA. Os resultados indicam que os dois exames são extremamente correlatados (correlação positiva). De acordo com os dados do presente estudo conclui-se que a prevalência da cisticercose bovina no Paraná é alta (endêmica) e que somente a clássica inspeção pós-morte não detecta todos os cistos na

carcaça. O método de IgG-Elisa deve ser usado como rotina para triagem dos animais a serem enviados ao abate e os resultados poderiam servir para uma inspeção ante e pós-morte mais precisa e que também se possa certificar os cortes cárneos, notadamente os destinados à exportação, como isentos do perigo biológico da cisticercose.

SUMMARY

The aim of the present study was to analyze the prevalence of bovine cisticercosis. 26.633 bovine were followed between July - December of 2000, in SIF 1710, Argus Ltda, slaughterhouse (São José of Pinhais, state of Paraná, Brazil). The animals came from 141 municipal districts. Data as destination of carcasses, location of the cisticerci, origin of animals were obtained from nosographic maps from the slaughterhouse. The prevalence of bovine cisticercosis was 3,82%. 66,97% from these cisticerci were non-viable while 33,02% were viable. The site of predilection were masseters and heart muscles (97,42%). During the routine post-mortem inspection exams 1.020 animals had positive parasitological exams for cisticercosis. 94% possessed only one larvae and 6% had several cysts. Of the 141 municipal districts that supplied animals for discount in the period, the municipal district of Antônio Olinto presented the largest index (27,27%) of positive cases. All the 359 viable cysts submitted to fixation, staining and optic microscopy were identified morphologically as *C. bovis*. We did not observe *C. cellulosae* infecting the bovine musculature. A serological test for research of antibodies anti-*Cysticercus bovis* was standardized. The antibody studied was IgG anti-*C. bovis* by ELISA test using a heterologous antigen: *C. longicollis*. The test was standardized according to the following procedures: concentration of antigen was 10 g/ml, dilution of the bovine serum was 1:200, dilution of the conjugated bovine anti-IgG was 1:5500 and Cut-off was 0,295. Eight hundred and twelve samples were analyzed and when parasitological and serological exams were compared by ELISA the following was obtained: a coefficient of sensitivity of 83,62% and specificity of 92,85%, predictive positive value of 99,70% and index of Youden 0,75. The correlation coefficient was $R = 0,9978$. The results indicate that the two exams are extremely correlated (positive correlation). In agreement with the data of the present study we can conclude that the prevalence of the bovine cisticercosis in Paraná state is high (endemic) and that only the post-mortem classic inspection doesn't detect all the cisticerci in the animal carcass. The research of IgG by Elisa test should be used as routine for screening positive animals and could be very useful for a more precise inspection. This methodology could also certify notably the courts destined to the export, as exempted from the biological danger of cisticercosis.

1. INTRODUÇÃO

A cisticercose é um importante problema de Saúde Pública e por ser uma zoonose parasitária reveste-se de importância por sua elevada frequência e as poucas informações disponíveis sobre sua prevalência. Outro problema existente é a falta de inter-relacionamento entre os vários níveis de Inspeção Oficial (SIM, SIP e SIF), ocasionando falsos dados nosográficos da verdadeira ocorrência da cisticercose animal.

Um levantamento epidemiológico baseado nos achados de inspeção pós-morte, e não somente em dados nosográficos registrados oficialmente, são de extrema valia para ampliar o conhecimento e determinar a verdadeira prevalência desta zoonose.

Dados do Serviço de Inspeção Federal, no Ministério da Agricultura, sobre a ocorrência da cisticercose suína e bovina em estabelecimentos inspecionados, no período de 1971 a 1982, mostram uma prevalência média de 0,46% e 2,25%. Porém, isso infelizmente não reflete a realidade brasileira, se considerarmos o alto índice de carne não inspecionada consumida pela população. Por outro lado, falta uma padronização dos procedimentos de inspeção "post mortem" nos diversos estabelecimentos inspecionados. Quando essa padronização for implantada teremos resultados alarmantes, mostrando a real ocorrência da parasitose no País.

Há uma predominância da *Taenia saginata* na população brasileira, como pode ser comprovado pelos dados encontrados na população atendida no Laboratório Central do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, no período de 1960 a 1989. Das 355 proglotes enviadas para identificação, 311 (87,60%) estavam em condições de serem especificadas. Dessas, 237 (87,80%) eram proglotes de *T. saginata* e 38 (12,2%) de *T. solium* (UNGAR, 1992).

A situação do complexo teniose cisticercose permanece pouco estudada em nosso meio, principalmente no que concerne à *T. saginata*. Talvez em virtude das autoridades de Saúde Pública e da Agricultura considerarem que existe uma incidência baixa (dados globais) e que as infecções humanas não são consideradas de gravidade, principalmente, em relação à neurocisticercose.

Há que considerar os dados alarmantes de áreas do País, onde a inspeção é bem realizada e onde são encontrados índices elevados variando de 22,5% a 45% em Pitangueiras e Descalvado - SP, respectivamente (JORDÃO, 1984).

Concorrem para isso a falta de notificação dos casos humanos e sub notificação dos casos de cisticercose animal, a não padronização de técnicas adequadas para o diagnóstico tanto do parasito adulto no homem como da forma larvária nos animais hospedeiros intermediários.

Deve ser ressaltado que existe uma tendência a considerar que somente o *Cysticercus cellulosae* acomete o homem e que o *Cysticercus bovis* não apresenta qualquer gravidade. Isto não é correto, porquanto a literatura especializada registra inúmeros casos de neurocisticercose determinada pelo *C. bovis* (BUSTAMANTE, 1972; NINO, 1950; FAY, 1972; PAWLOWSKI e SCHULTZ, 1972). Os dados deveriam ser melhor avaliados, pois enquanto a prevalência da cisticercose suína decresceu nos últimos anos, a cisticercose bovina mostra um aumento de prevalência. É bom ressaltar que ela sempre existiu, mas era imprópriamente diagnosticada. A introdução de novas técnicas no exame “post mortem” contribuiu decisivamente por este aumento constatado (SANTOS, 1998). Poderá ocorrer a infecção do homem pelo metacestoda da *T. saginata* encontrada na carne bovina, considerando que isto somente ocorreria pelo *C. cellulosae* (metacestoda da *T. solium*), pois são *Taenias* homólogas de ciclo biológico semelhante. Não existe aqui a questão de especificidade, de tropismo, que seria somente observado para o *C. cellulosae* em relação a sua presença no cérebro humano. Talvez as razões de crer que somente *C. cellulosae* tenha esta capacidade seja o fato que este metacestoda é também encontrado no cérebro de suínos na prática da inspeção pós-morte.

Acontece que se tem confirmado na prática de inspeção pós-morte de bovinos a presença de *Cysticercus bovis* no cérebro desses animais, conforme registrado em literatura especializada (SANTOS *et al.*, 1978). Dessa forma tal como o *C. cellulosae*, o *C. bovis* poderia ser encontrado em outros tecidos do animal e do homem, que não o muscular. Assim, o *C. bovis* pode infectar o homem dependendo da frequência e das oportunidades da ingestão de ovos embrionados de uma ou outra *Taenia* (SANTOS, 1996). O que poderia estar ocorrendo é o não esclarecimento do diagnóstico.

A ação preventiva da teniose apoia-se em um conjunto de medidas que visam impedir a infecção do homem pela *Taenia solium* e *T. saginata* e, com isso, bloquear o ciclo desses parasitas na natureza. Atualmente não se dispõe de recursos de comprovada eficácia para o controle da cisticercose “in vivo”. O recurso de maior expressão é a inspeção de carnes com exame pós-morte criterioso, o julgamento e o saneamento adequado das carcaças parasitadas.

A inspeção de carnes é a medida direta de maior importância na prevenção da teniose. É evidente que não se pode esperar a erradicação da teniose apenas com a inspeção de carnes, especialmente do modo como é ela praticada no mundo e também entre nós.

Convém salientar que, mesmo que fosse possível o exame de todas as massas musculares exploráveis nas condições normais do procedimento de inspeção de carnes, não é possível assegurar-se, em caso de resultado negativo, que a carcaça esteja livre de cisticercose. Contudo, com a aplicação de novas técnicas um grande número de carcaças parasitadas poderia ser detectado, é o que se tem procurado fazer com êxito comprovado.

Segundo RODRIGUES (1993) e LUKES *et al* (1986) criticando a eficiência da inspeção de carnes relatam que podem não ser detectados de 40-50% dos animais afetados, particularmente nos casos de infecção leve. Por exemplo, DEWHIRST (1983), encontrou na inspeção uma eficácia de apenas 27%. De fato, atualmente, os problemas mais importantes em inspeção de carnes estão relacionados com: localização dos cisticercos e o emprego de novas técnicas de diagnóstico.

No diagnóstico de cisticercose animal “in vivo” encontra-se uma série de dificuldades. A esse respeito, a maioria dos animais positivos para a presença de cisticercos são monocisticercóticos. Esses dados podem ser observados em trabalho realizado por SANTOS (1984) num estudo retrospectivo com 414.783 bovinos sendo que 96% dos animais eram monocisticercóticos (um só cisticerco nos locais pesquisados). Este comportamento do parasito impõe para o inspetor de carnes uma grande dificuldade em detectar esses cisticercos solitários.

Estudos têm sido realizados no propósito de melhorar a especificidade e sensibilidade dos testes. Durante as últimas décadas muitos esforços têm sido dispensados para melhorar os métodos para diagnóstico da cisticercose bovina.

As reações sorológicas mostram uma alternativa que poderia ajudar nesta prática melhorando o diagnóstico ou o trabalho de prevenção. A detecção de níveis baixos de anticorpos é afetada pela interferência de antígenos não específicos ou reações cruzadas nos testes de imunodiagnósticos. Porém, trabalhos nesta área continuam buscando um método sensível, específico, simples e barato que poderia produzir resultados confiáveis nos programas de teste de rebanho que seriam capazes de um diagnóstico pós-morte rápido e confiável em matadouros, sendo de grande valor para o controle da cisticercose.

Para os testes imunológicos visando o diagnóstico três antígenos são possíveis de serem usados: metacestoda de *Taenia saginata*, de *Taenia solium* ou de *Taenia crassiceps*. O primeiro seria um antígeno homólogo. O inconveniente, nestes casos, é que possam ocorrer reações inespecíficas, até mesmo com proteínas do próprio animal. No segundo caso é universalmente difícil a obtenção de cisticercos de *Taenia solium*, para produzir antígenos heterólogos de boa qualidade. A terceira alternativa, seria usar antígenos de outros parasitas, como *Taenia crassiceps*, ou ainda obtidos por métodos de engenharia genética (LARRALDE; SOTELO; MONTOLA, 1990).

No entanto, o antígeno de *Cysticercus longicollis* foi testado para pesquisar anticorpos anti-*Cysticercus bovis*, com baixa reatividade quando comparado com antígenos de *Taenia saginata* e *Taenia solium* segundo MINOZZO (1997) e com alta concordância entre os resultados do método de ELISA com o exame pós-morte e exame ante-morte de língua em suínos (BIONDI, 1996).

Diante do exposto anteriormente, é indispensável aprofundar o estudo da sensibilidade, especificidade e os valores preditivos da prova imunológica ELISA a partir do antígeno de *C. longicollis* para pesquisar anticorpos anti-*Cysticercus bovis* em soro sanguíneo de bovinos.

Em levantamento estatístico dos dados nosográficos do Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, DFA-PR e de algumas Inspeções Federais isoladas, obtivemos a seguinte prevalência no estado do Paraná da ocorrência da cisticercose:

Quadro 1 – Prevalência da cisticercose animal no estado do Paraná no período de 1950 à 1999.

Anos	<i>Cysticercus cellulosae</i> % Em suínos	<i>Cysticercus bovis</i> % em bovinos
50 – 52	5 à 10	2 a 2,50
66 – 67	4,20	2,50
79 – 82 (Londrina)	0,46	7,18
84	0,30	2,78 a 3,60
90 – 95	0,03	3,60 – 5,10
96	0,01	3,66
97	0,01	3,68
98	0,001	4,77
99	0,001	4,60 à 7,70

Fonte: SIPA-DFA-PR.

Dados referentes a 54.694 exames tomográficos, realizados em 9 regionais de saúde do Estado do Paraná, no período de 1988 à 1992, apresentaram percentuais de positividade de 4,76 à 19,32%. O número de casos de cisticercose humana notificados e confirmados no Paraná (1993-2000) foi de 1531. O coeficiente de incidência/100.000 habitantes de neurocisticercose (1993 à 1999) foi de 2,0; 3,1; 4,8; 1,1; 1,9; 1,7; 1,7 respectivamente. O coeficiente de letalidade (1993-1997) variou de 31,63; 11,97; 2,93; 14,87; 10,22, respectivamente.

Analisando-se os dados de ocorrência de cisticercose animal no período de 1950 à 1999 e o elevado número de neurocisticercose diagnosticada em humanos no estado do Paraná, formulamos as seguintes hipóteses:

* Como há um aumento crescente no número de neurocisticercose humana e paralelamente há um decréscimo no número de condenações de suínos por *C. cellulosae*, em frigoríficos, estariam os bovinos assumindo importância epidemiológica na manutenção da cisticercose por *C. cellulosae*, ou seja, seria o bovino portador de *Cysticercus cellulosae*?

* No Paraná os cistos extraídos em cirurgias humanas não são identificados parasitologicamente; poderia estar ocorrendo o aumento de neurocisticercose humana causada por *Cysticercus bovis*?

Considerando-se a elevada prevalência de cisticercose bovina no estado do Paraná e a baixa prevalência de cisticercose suína, esta pesquisa teve como propósito investigar:

1º A ocorrência de *Cysticercus cellulosae*, habitual parasita de suíno, na musculatura de bovinos abatidos e examinados no exame pós-morte em matadouro frigorífico com SIF.

2º A prevalência de cisticercos (*C. bovis* ou *C. cellulosae*) no rebanho bovino paranaense e a sua distribuição geográfica.

3º A localização anatômica dos cisticercos de maior prevalência nos bovinos abatidos.

4º Determinar a especificidade e sensibilidade do teste de Elisa e o valor preditivo para um diagnóstico de cisticercose bovina. Verificar a utilização do método como diagnóstico individual ou de rebanho.

5º Estudar comparativamente os dados dos cisticercos obtidos na inspeção pós-morte com os dados obtidos através da prova sorológica (Prova de ELISA).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A cisticercose já era reconhecida na antigüidade. Aristófanes fez referências a cisticercose suína em manuscritos entre os anos 380 a 375 antes de Cristo, descrevendo a ocorrência de cisticercos localizados na língua examinados através de palpação (NIETO, 1982; SAIZ MORENO *et al.*, 1990). Aristóteles descreveu as características gerais da doença nos suínos (In: NIETO, 1982; SAIZ MORENO *et al.*, 1990; PESSÔA e MARTINS, 1982). Em um papiro egípcio datado de 1.500 anos antes de Cristo, há alusões a enfermidades conhecidas naquela época, dentre elas uma seria a teniose por *Taenia solium*. Nos livros sagrados dos judeus existem proibições para o consumo de carne procedente de suínos. Estas recomendações vêm desde os tempos mais antigos (ano de 5.000 antes de Cristo), porque os ascendentes mais remotos dos judeus tiveram como um tótem um javali (SAIZ MORENO *et al.*, 1990). Como muito provavelmente os judeus não tinham noção do ciclo desta parasitose e do papel dos parasitos para a saúde, as proibições do consumo de carne não teriam correlação com qualquer medida preventiva. O suíno seria considerado, tal como os bovinos na Índia, um animal sagrado.

Os cestódeos *Taenia solium* e *Taenia saginata* são responsáveis pela teniose humana. As respectivas formas larvais produzem a cisticercose (*Cysticercus cellulosae* e *Cysticercus bovis*). O único hospedeiro definitivo de ambas as *Taenias* (fase adulta do parasito) é o homem, em cujo intestino delgado se alojam. Os hospedeiros intermediários de *Taenia solium* são os suínos e os de *Taenia saginata* são os bovinos (ACHA e SZYFRES, 1986; REY, 1991).

O ciclo das *Taenias* implica dois hospedeiros e uma fase de vida livre; adulto no hospedeiro definitivo, ovos no ambiente e cisticercos (fase larval) no hospedeiro intermediário (GEMMELL e LAWSON, 1982; GEMMELL *et al.*, 1983).

Os parasitas adultos (*Taenias*) são específicos quanto ao hospedeiro definitivo, enquanto que as fases larvárias (cisticercos) não são muito específicas quanto aos hospedeiros intermediários (REY, 1973; REY, 1991). Alguns autores sustentam que a cisticercose humana por *T. saginata* é extremamente rara ou não ocorre (BENENSON, 1992; ACHA e SZIFRES, 1986; SCHANTZ *et al.*, 1994; ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, 1994; SCHENONE, 1982), enquanto outros admitem a possibilidade de cisticercose humana por

ambas as espécies de *Taenia* (GEMMELL *et al.*, 1983; REY, 1973; REY, 1991; PAWLOSKI e SCHULKITZ, 1972).



FIGURA 1. Parasitas adultos. À esquerda *T. solium* e à direita *T. saginata*. GUSSO, 2000.

2.1 TENIOSE HUMANA

O gênero *Taenia* pertence à:

Classe Cestoidea (RUDOLPHI, 1808)

Ordem Cyclophyllidea (VAN BENEDEN, 1950; BRAN, 1990)

Família Taenidae, (LUDOWIG, 1886; REY, 1991).

Taenia solium mede 3 a 5 metros de comprimento. A cabeça ou escólex é provida de quatro ventosas e rostro armado com dupla coroa de ganchos. Além do escólex possui o colo ou pescoço (mais delgado) e finalmente o estróbilo ou corpo com as proglotes ou anéis. As proglotes se dividem em jovens, maduras e grávidas, estando estas últimas repletas de ovos. As proglotes grávidas medem 1cm de comprimento por 0,6 a 0,7 cm de largura, apresentando até 10 ramificações uterinas.

Taenia saginata mede 6 a 7 metros e o escólex não possui ganchos (PESSÔA, 1982).

A eliminação de proglotes no caso de *T. solium* pode não ser observada, ocorrendo a eliminação com as fezes, poderá passar despercebida (REY, 1991; CARRADA, 1987). As proglotes de *T. saginata* são notados pelo hospedeiro, mostrando ramificações dicotômicas, as contrário de *T. solium* (HUGGIN *et al.*, 1989).

As *Taenias* podem viver muitos anos no intestino delgado do homem. Podem eliminar, no caso da *T. solium*, de três a seis proglotes quase diariamente. Cada proglote contém uma média de 30.000 a 50.000 ovos, ou seja, são eliminados entre 90.000 a 300.000 ovos

diariamente. Em *T. saginata* cada proglote grávida contém em torno de 80.000 ovos, sendo que um paciente parasitado contamina o meio com cerca de 700.000 ovos por dia (REY, 1992).

O homem adquire a *Taenia* ao ingerir carne contaminada crua ou mal cozida contendo cistos (ACHA e SZIFRES, 1986; REY, 1992; GEMMELL *et al.*, 1983). Os cisticercos são liberados durante a digestão da carne e o escólex desenvagina sob ação da bile, fixando-se no intestino delgado. As primeiras proglotes são eliminadas dentro de 60 a 70 dias. A *Taenia* vive no intestino delgado do homem e normalmente o hospedeiro alberga apenas um parasita. Isto poderia ser devido à imunidade desenvolvida pelo próprio hospedeiro, impedindo o desenvolvimento de outras tênias da mesma espécie (REY, 1992).

Estudando teniose em uma série histórica de 30 anos, DIAS *et al.*, (1991) encontraram nas proglotes examinadas 87,8% de *T. saginata* e 12,2% de *T. solium*. Geralmente a teniose por *T. saginata* é mais freqüente que por *T. solium* (HUGGINS *et al.*, 1989; SALAZAR *et al.*, 1984). Estas informações contrariam os relatos de outros autores que identificaram maior proporção de casos de *T. solium* em relação aos de *T. saginata* (KAMINSKY, 1991; ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, 1994).

Estão mais sujeitas à teniose as pessoas que preparam alimentos e provam a carne antes de cozinhar e indivíduos que comem fora de casa. Fatores econômicos, culturais (hábitos alimentares) e religiosos tendem a expor certos grupos de indivíduos em maior ou menor grau. Na culinária tradicional de muitas culturas há pratos que utilizam carne crua, por exemplo o quibe cru. (REY, 1991).

As duas espécies de *Taenias*, segundo ACHA e SZYFRES (1986) estão presentes em todo o mundo. Os mesmos autores estimam que em 1947 cerca de 39 milhões de pessoas no mundo estavam infectadas com *T. saginata*, 2,5 milhões com *T. solium*. Estas cifras devem ter aumentado com o crescimento das populações humana e animal. É endêmica na América Latina (GEMMELL *et al.*, 1983; ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, 1994).

A teniose pode cursar de forma assintomática, porém alguns pacientes manifestam alterações no apetite (anorexia ou apetite exagerado), náuseas, vômitos, dor abdominal, diarreia, emagrecimento, irritabilidade e fadiga (HUGGINS *et al.*, 1989; CARRADA – BRAVO, 1987).

O diagnóstico pode ser realizado através do exame de proglotes nas fezes, através de técnica de tamização, pesquisa de ovos nas fezes, ou pesquisa de ovos com a técnica da fita

gomada na região perianal. Os ovos das duas espécies de *Taenia* não podem ser diferenciados (HUGGINS *et al.*, 1989; REY, 1992).

No Estado do Paraná existem focos do complexo teniose - cisticercose em todas as 22 regionais de saúde (divisões administrativas da Secretaria Estadual da Saúde). Há significativa disseminação de todas as formas infectantes, atingindo a população humana, rebanhos bovino e suíno, principalmente os criados em regime de liberdade e que fazem coprofagia direta ou indireta. O meio ambiente está contaminado, expondo ao risco os consumidores de alimentos, em especial de frutas rasteiras, hortaliças e mananciais de água potável (THOMAZ- SOCCOL e GUSSO, 1997). Os percentuais de positividade para *Taenia* spp diagnosticados na rede do Serviço Único de Saúde do Paraná variam de 1 a 5% mas são pouco adequados à configurar prevalências, porque os métodos coproparasitológicos utilizados na rede pública de saúde apresentam sensibilidade para *Taenia* sp próxima de 30% (Método de HOFFMANN, PONS e JANER).

As drogas mais utilizadas atualmente para o tratamento são o praziquantel, mebendazol e albendazol (HUGGINS *et al.*, 1989; REY, 1992). Há referências à semente de abóbora como um medicamento caseiro de boa eficácia (REY, 1992; CAMPOS, 1991).

2.2 OVOS NO AMBIENTE

Há fatores que auxiliam a dispersão dos ovos de *Taenia* tais como: a contaminação fecal do solo, o transporte através do vento, aves, anelídeos e artrópodes (moscas, besouros, traças, formigas, pulgas e ácaros oribatídeos) (GEMMELL e LAWSON, 1982; LAWSON, 1982; GEMMELL *et al.*, 1983; REY, 1991; ACHA e SZYFRES, 1986).

Os ovos de todas as *Taenias* são sensíveis à dessecação e temperatura (GEMMELL e LAWSON, 1982; GEMMELL, 1987), podendo permanecer viáveis na pastagem por períodos de aproximadamente 4 até 12 meses (HUGGINS, *et al.*, 1989). Os ovos são resistentes aos tratamentos convencionais de esgotos (REIFF, 1994; GEMMELL *et al.*, 1983; THOMAZ-SOCCOL *et al.*, 1997; PAULINO *et al.*, 2001). Porém, o tratamento convencional da água como floculação, sedimentação e filtração é suficiente para eliminar os ovos (REIFF, 1994). Na utilização de fezes como fertilizantes, a maneira mais prática de inviabilizar os ovos de *Taenia* seria pela elevação da temperatura quer seja através da decomposição anaeróbia nos sistemas em que as temperaturas possam atingir pelo menos 65°C por mais de 7 dias (REIFF, 1994), quer seja nos processos de compostagem (THOMAZ-SOCCOL *et al.*, 1999) ou ainda

por tratamentos com cal onde o pH permanece acima de 12 por 60 dias (THOMAZ-SOCCOL *et al.*, 2000).

2.3 CISTICERCOSE ANIMAL

Quando os bovinos ou os suínos ingerem os ovos das *Taenias* junto com o pasto, ou com as próprias fezes ou na água, desenvolvem cisticercos em seus tecidos. O hábito pouco higiênico das pessoas de defecar em campo aberto ou em sanitários sem devidas fossas, muitas delas instaladas sobre córregos e rios, contribui para o problema (ACHA e SZYFRES, 1986). Para GAMMELL e LAWSON (1982) a ingestão de ovos pelos animais se dá na maior parte das vezes por ingestão de fezes. Já os suínos, por possuírem hábitos coprofágicos, têm mais facilidade de adquirir a doença.

Quando os ovos da *Taenia* são ingeridos pelos hospedeiros intermediários, os embriões (oncosferas) se libertam do ovo no intestino delgado pela ação dos sucos digestivos e bile. As oncosferas penetram na parede intestinal e em 24 a 72 horas se difundem no organismo através da circulação sangüínea. Ocorre então formação de cisticercos nos músculos esqueléticos e cardíaco (ACHA e SZYFRES, 1896; REY, 1992; GEMMELL *et al.*, 1983). Os cistos medem de 7 a 12 mm de comprimento por 4 a 6 mm de largura (REY, 1992).

Nos bovinos, *Cysticercus bovis* se desenvolve com uma duração de 60 a 75 dias. Em algumas semanas, ou até 9 meses os cistos começam a degenerar, morrem e calcificam (ACHA e SZYFRES, 1986). Nos suínos o desenvolvimento completo dos cistos se dá em 60 dias após a infecção (SALAZAR – SCHETTINO e HARO – ARTEAGA, 1990), permanecendo a larva infectante para o homem durante vários anos (REY, 1992).

GEMMELL (1987) utilizando *T. hydatigena* e *T. ovis* nos ovinos como modelo para o estudo da biologia de *T. solium* e *T. saginata*, concluiu que uma pressão alta de infecção pode durar até 2 semanas. Porém, os animais adquirem imunidade e após uma semana os ovos não sobrevivem. Numa região hiperendêmica o hospedeiro intermediário é suscetível apenas por um curto período de tempo. A imunidade da fase pré-cística não é perdida pela presença de larvas mortas ou viáveis de exposições prévias, mas ela depende da ingestão de ovos. A resposta imune depende do tempo entre exposições (ingestão de ovos) e não do número de ovos ingeridos. O conhecimento da imunidade dos animais para a cisticercose não está totalmente desenvolvido, havendo muitos pontos a serem esclarecidos.

As informações sobre cisticercose suína e bovina provém dos registros da inspeção veterinária de carnes. A inspeção consta de exames de visualização, palpação e cortes dos músculos da cabeça, língua, coração (FIGURA 2), diafragma, músculos do pescoço e intercostais (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 1980). Convém assinalar que a inspeção rotineira dos animais nos frigoríficos têm sérios limites para a identificação de carcaças infectadas, particularmente com infecções leves (GEMMELL, 1993). O conhecimento da localização do cisticerco na carcaça é essencial para a eficácia da inspeção. Ainda existem controvérsias. Alguns autores indicam que o coração é o órgão mais evoluído. Em estudo realizado por SANTOS (1991), foi observado 2,37 vezes mais cisticercos no coração que na cabeça. Outros autores, porém, acreditam que o exame dos masséteres e pterigóides (cabeça) é o local mais efetivo para a detecção. Ainda outros argumentam como eficaz a incisão dos músculos da paleta. Alguns autores admitem que provavelmente não exista um local de predileção que seja aceitável para todos os animais.

A disparidade nos relatos dos diversos autores sobre a distribuição dos cisticercos nos locais de predileção provavelmente seja devido a:

1. não padronização das técnicas;
2. pequeno número de animais examinados, mostrando uma tendência para esse ou aquele local examinado;
3. estudos realizados com populações grandes, porém de áreas geográficas diferentes;
4. diferenças nas idades dos animais abatidos;
5. densidade demográfica na área de origem dos animais abatidos;
6. sistema de criação do gado e,
7. caminho de embolização tomado pela oncosfera.

Devemos enfatizar que os dados de prevalência, pesquisas e vigilância da cisticercose bovina e suína estão alicerçados firmemente na identificação do cisticerco na inspeção pós-morte dos animais produtores de carnes.

As críticas feitas às limitações, à inspeção de carnes são baseadas nas técnicas de fatiamento. São de difícil avaliação, pois os autores não descrevem, via de regra, detalhadamente, as técnicas de exame pós-morte. O maior problema é que inviabilizaria a carne para consumo principalmente na forma em que é consumida no Brasil. A despeito dessas limitações, a inspeção é um método valioso, específico de identificação de uma infecção no bovino. Ele identifica carcaças com infecções intensas e leves e serve como uma

advertência precoce do grau de infecção em uma comunidade. A liberação da carcaça ocorre quando da ausência de cisticercos ou a presença de um cisto calcificado. Quando há presença de cisticerco(s) vivo(s) ocorre o aproveitamento condicional e até condenação total (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 1980; SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO, 1993; BRITO, 1987; REY, 1991; GEMMELL, 1983 *et al.*; DUARTE e CORRÊA, 1985).

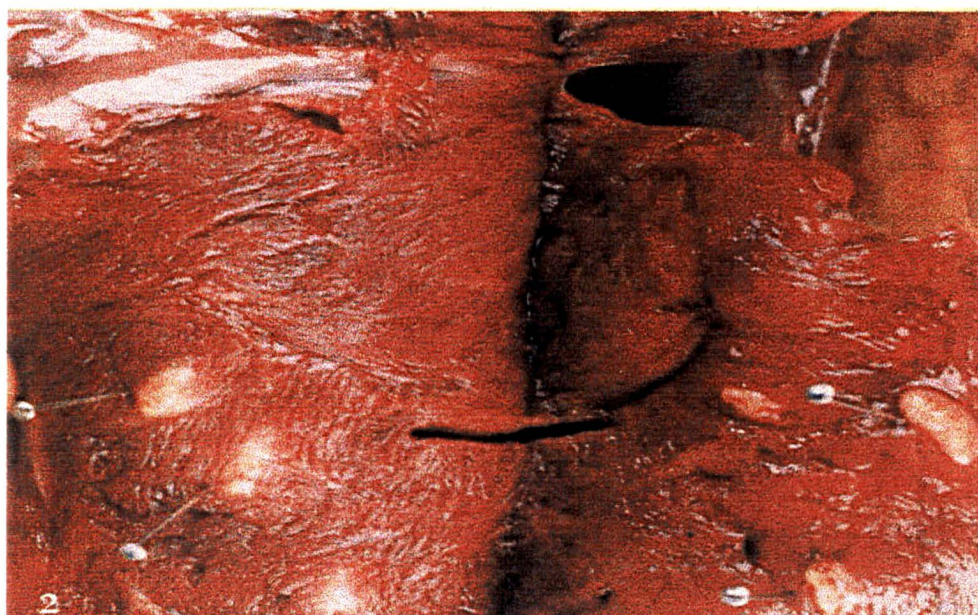


FIGURA 2 – Foto de *C. bovis* no músculo cardíaco bovino.

Fonte: Catálogo de produtos veterinários Ouro Fino Ltda. - SP- 2000.

Nas áreas rurais, freqüentemente, os pequenos produtores criam suínos em pequena quantidade, sem controle sanitário e muitas vezes com acesso à fezes humanas, o que facilita a ingestão de ovos e aquisição da enfermidade (ACEVEDO – HERNÁNDEZ, 1982).

Os animais criados em boas condições de higiene, nas pequenas propriedades, em geral são sacrificados pelos próprios donos, sem inspeção veterinária, para o consumo da família ou são vendidos livremente nos mercados (ACHA e SZYFRES, 1986; SARTÍ GUTIÉRREZ e GUTIÉRREZ OSPINA, 1986). No Peru (PERU, 1994), estima-se que 48% da carne é vendida clandestinamente e 23% de toda a carne consumida provém de animais com cisticercose. A proporção de suínos clandestinos infectados, observada através de exame lingual foi entre 14 e 25%.

As perdas econômicas pela cisticercose bovina e suína são consideráveis pela condenação das carcaças contendo cisticercos. KAMINSKY (1991) verificou a frequência de cisticercose em suínos e bovinos do principal frigorífico da capital de Honduras no período entre 1981 e 1986. O autor observou que foram positivos 48% dos suínos abatidos e 0,05% dos bovinos. UNGAR e GERMANO (1992) examinaram os dados de fichas dos abatedouros dos Estados de São Paulo, e encontraram uma prevalência de cisticercose bovina de 5,5%. Os autores estimam que a prevalência da cisticercose bovina no Brasil está entre 0,7 e 5,3%. Porém, há poucos trabalhos nesta área nos últimos dez anos.

O calor mata os cisticercos, sendo que o *C. cellulosae* morre a temperaturas de 55°C, enquanto que o *C. bovis* morre a 50°C. Porém, é muito difícil atingir temperaturas muito elevadas no interior de pedaços grossos de carne (REY, 1991). A carne submetida a temperaturas acima de 0°C não afeta a sobrevivência dos cistos de *C. cellulosae*. Mas, o congelamento por 4 dias de -5°C ou 3 dias a -15°C, ou ainda um dia a -24°C mata os cisticercos de suínos (SOTELO *et al.*, 1986). O congelamento da carne de suíno ou bovino por mais de 4 dias a temperatura de -5°C destrói eficazmente os cisticercos (BENENSON, 1992). REY (1991) admite que os cisticercos morrem em seis dias quando mantidos a temperatura de -15°C, ou inferiores a esta.

A salga também torna os cisticercos inviáveis. No destino de carcaças de bovinos abatidos com cisticercose com número pequeno de cistos, recomenda-se que a carne seja tratada por 21 dias com salmoura, que pode ser reduzida para 10 dias quando for mantida a temperatura igual ou inferior a 1°C (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 1980). A salga destrói os cisticercos contidos na carne de porco em 14 dias quando a mesma é cortada e submersa em salmoura a 25% (BARTELS, 1971). Entretanto, THORNTON (1969) cita um tempo mais prolongado de 3 a 4 semanas e os pedaços de carne não devem pesar mais que 2,5 kg. PESSOA e MARTINS (1982) admitem que o uso de salmoura (50 g de sal por kg de carne) durante 2 a 3 semanas inviabiliza os cisticercos.

Há possibilidade de haver infecção cruzada entre suínos e bovinos, tendo sido demonstrada experimentalmente a formação de *Cysticercus cellulosae* em bovinos (GUSSO, 1996).

2.4. CISTICERCOSE HUMANA

A importância do complexo teniose-cisticercose para a saúde pública é que o homem pode ser tornar além de hospedeiro definitivo da *Taenia*, hospedeiro intermediário e abrigar a fase larval. É o que se denomina de cisticercose humana (REY, 1991; ACHA e SZYFRES, 1986).

VERONESI *et al.* (1991) enfatizam que a importância da cisticercose na patogenia humana está na dependência da localização do parasita em tecidos nobres, como os do globo ocular e do sistema nervoso central (neucisticercose), sendo que em outras localizações, como a subcutânea, a muscular e a visceral, o cisticerco representa, via de regra, achado sem maior significação na patologia humana. Porém, a presença de cistos em outras localizações poderia ser um indicador da presença de cistos nos tecidos mais nobres.

A cisticercose é a enfermidade parasitária que com maior frequência afeta o sistema nervoso central (ALBUQUERQUE e GALHARDO, 1995; BRUTTO e SOLETO, 1988). É considerada a mais grave das infecções parasitárias do sistema nervoso humano (FLISSER e PLANOARTE, 1991; COULDWELL e APUZZO, 1992; SCHENONE *et al.*, 1982), acometendo grande número de pessoas e produzindo algumas vezes grave sintomatologia (FLISSER, 1997).

2.4.1. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

VELASCO-SOÁREZ *et al.* (1982) estimaram as perdas econômicas causadas pela cisticercose no México. Cada indivíduo enfermo gasta mais de 217 dólares por mês, resultando uma perda anual com a população doente, de 255 milhões de dólares. O gasto por paciente por ano pelas instituições públicas é de aproximadamente 2.173 dólares. Cerca de 25% dos indivíduos que apresentam sintomas de distúrbios neurológicos, sofrem de neurocisticercose.

Ainda é preciso considerar o impacto da doença na vida pessoal e familiar além dos gastos com atenção médica, medicamentos e cirurgia. Uma alta percentagem de indivíduos (cerca de 75%) com neurocisticercose ficam incapacitados para o trabalho nos primeiros meses da enfermidade. Os autores ainda afirmam que em quase todos os serviços de neurocirurgia por doenças cerebrovasculares podem ser produzidas pela neurocisticercose.

Estas informações são conflitantes com os dados de SARTI-GUTIERREZ *et al.* (1988) que declaram que no México a neurocisticercose é responsável por quase 9% das entradas nos serviços de neurologia e neurocirurgia, sendo o diagnóstico final de 11 a 25% dos pacientes submetidos a cirurgias para remoção de tumores. A neurocisticercose, segundo estes autores ocorre em 2,8 a 3,6% das necropsias na cidade do México.

Na América Latina, a média de hospitalização pela neurocisticercose varia entre 42 a 46 dias. Pelo menos 50% dos casos necessita mais de que uma internação hospitalar e mais de que uma intervenção cirúrgica. O custo estimado de hospitalização no México era de aproximadamente 1.600 dólares entre 1970 a 1972 (SCHENONE *et al.*, 1982).

2.4.2. DISTRIBUIÇÃO E FREQUÊNCIA

A cisticercose ocorre nos países da América Central e do Sul, na Ásia, África e Austrália (AUBRY *et al.*, 1995). Nos países em desenvolvimento da Ásia, África, assim como na América Latina a neurocisticercose é considerada endêmica (BRUTTO e SOTELO, 1987; BRUTTO e SOTELO, 1988). Ocorre esporadicamente nos países industrializados e nos países de religião muçulmana. Estima-se que anualmente são infectadas no mundo cerca de 50 milhões de pessoas com 50.000 mortes (AUBRY *et al.*, 1995). Na América Latina calcula-se que a taxa de prevalência por neurocisticercose é de 100 casos por 100.000 habitantes, atingindo cerca de 350.000 pessoas (SCHENONE *et al.*, 1982). A enfermidade foi encontrada em 17 países latino-americanos. De 123.826 necropsias realizadas em nove países, foi encontrada uma taxa de 0,43% de neurocisticercose, sendo as taxas mais elevadas de morbidade as encontradas nas áreas rurais (ACHA e SZYFRES, 1986).

A prevalência da doença mesmo em áreas endêmicas é desconhecida com precisão porque o diagnóstico é confirmado através de tomografia computadorizada e de exames imunológicos. Isto torna impraticável o estudo da prevalência. Um outro fator é que as manifestações clínicas são pleomórficas e por este motivo não é feito diagnóstico. Estudos de necropsia em hospitais gerais de áreas endêmicas surgem uma prevalência de 3,8% (BRUTTO e DOTELO, 1988; WOODHOUSE *et al.*, 1982). Contudo, observa-se aumento do diagnóstico de neurocisticercose logo após a implantação de serviço de tomografia computadorizada (EARNEST *et al.*, 1987; TSUNG *et al.*, 1986; GALHARDO *et al.*, 1993; KAMINSKY, 1991; GONÇALVES-COELHO e COELHO, 1996).

A situação da neurocisticercose em hospitais de neurologia e neurocirurgia no Brasil nos anos de 1947-1955 era de 29%, em 1954-1965 era de 3,39% e em 1969-1988 era de 3,15% (ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, 1994). COSTA-CRUZ *et al.* (1995) mencionam as freqüências de cisticercose no Brasil variando de 0,12% a 3,6% sendo a localização mais freqüente o sistema nervoso central. GEMMELL *et al.* (1983) citam uma freqüência entre 0,4 a 3,2% de neurocisticercose em achados de necropsia na América Latina. Segundo ALBUQUERQUE e GALHARDO (1995) a incidência da neurocisticercose tem sido considerada baixa no nordeste brasileiro, sendo freqüente nos estados do sul, sudeste e centro-oeste do país. Isto se deve à falta de diagnóstico, visto que sob o ponto de vista clínico as manifestações são incharacterísticas.

A enfermidade é descrita em muitos estados do Brasil (ALBUQUERQUE e GALHARDO, 1995; CHEQUER e VIEIRA, 1990; VAZ *et al.*, 1990). No Triângulo Mineiro, Minas Gerais, GOBBI *et al.* (1980) publicaram estatísticas relatando que em 2.306 necropsias foram encontrados 2,4% de casos de cisticercose e destes 66% eram neurocisticercose. COSTA-CRUZ *et al.* (1995) realizaram 3.937 necropsias em Uberlândia, Minas Gerais e a análise de 2.862 registros com laudos completos e com idade acima de um ano revelaram 1,4% de cisticercose em pessoas com idade variável de 16 a 83 anos, sendo 89,7% com comprometimento de sistema nervoso central isolado ou associado a outras formas clínicas da doença. CLEMENTE e WERNECK (1990) calculam que a incidência de neurocisticercose no Rio de Janeiro é de cerca de um caso por mês. Em Lagamar, Minas Gerais, SILVA-VERGARA *et al.* (1994) encontraram uma prevalência provável de 1,9%. No município de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo, TAKAYANAGUI *et al.* (1996) obtiveram um coeficiente de prevalência de 54 casos/100.000 habitantes através de notificação compulsória.

A ocorrência de neurocisticercose entre nós pode ser avaliada pelos dados do Serviço de Neurologia Clínica do Hospital das Clínicas FMUSP, no período de 1969 à 1983, que revelou uma prevalência média de 3,15% em 8.249 pacientes atendidos. Nos anos de 1981 e 1983 foi de 4,9% e 4,7%, respectivamente. Os percentuais de positividade sugestivos para neurocisticercose nos centros tomográficos revelam valores superiores a 20% ao longo de um ano, entre pessoas que procuram o serviço por diversos motivos de encaminhamento neurológico (DOLIVEIRA e STREML, 1995).

2.4.3 MODOS DE TRANSMISSÃO

O homem adquire cisticercose através de alimentos contaminados (frutas e verduras) com ovos de *Taenia*, através do uso de água de irrigação contaminada com água de esgoto, ou ainda pela utilização de fezes humanas como adubo. Também pode ocorrer a ingestão de ovos através de água contaminada. Uma outra fonte importante de contaminação são os manipuladores de alimentos, que contaminam os alimentos através de maus hábitos de higiene também podendo se auto – contaminar (REIFF, 1994).

Há possibilidade de pessoas que residem em áreas urbanas adquirirem teniose ao frequentarem o meio rural, pela ingestão de produtos de origem animal contaminados com cisticercos e adquirirem cisticercose pelos alimentos preparados em condições higiênicas inadequadas, contaminados com ovos de *Taenia*. A ingestão de alimentos artesanais favorecia a infecção (ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, 1994).

Existe possibilidade também de uma auto-contaminação através de movimentos anti-peristálticos ou vômitos em que os ovos do intestino delgado voltam para o estômago e sofrem ação do suco gástrico, liberando as oncosferas para a corrente circulatória. É a chamada auto-infecção interna. Porém este mecanismo não está comprovado (ACHA e SZYFRES, 1986; REY, 1991). Após um a três dias da infecção, ocorre liberação dos embriões do duodeno e jejuno. As larvas alcançam a circulação sanguínea e se fixam nos diversos tecidos (REY, 1992).

2.4.4. FATORES RELACIONADOS COM A ENFERMIDADE

A idade das pessoas atingidas pela cisticercose é bastante variável (EARNEST *et al.*, 1987; SOTELO *et al.*, 1985; RODRIGUEZ CARBAJAL *et al.*, 1977). A cisticercose atinge sobretudo adolescentes e adultos jovens, podendo ser observada em qualquer faixa etária (AUBRY *et al.*, 1995; GUSSO, 2000). Em um levantamento realizado em 36 pacientes diagnosticados com neurocisticercose, EARNEST *et al.* (1987) encontraram uma variação na faixa etária entre 1,5 e 59 anos. SOTELO *et al.* (1985) encontraram neurocisticercose em pacientes com idade ente 5 a 76 anos, com mais frequência entre 25 e 35 anos.

RODRIGUEZ CARBAJAL *et al.* (1977) estudaram 232 casos de neurocisticercose e as idades variaram de 4 a 76 anos com maior frequência entre a terceira e a quarta décadas de

vida, corroborando os resultados de outros autores (ALVAREZ RUBIO e NAZAR, 1989; GANGZHI *et al.*, 1988). Para SCHENONE *et al.* (1982) a enfermidade é mais freqüente da terceira até a quinta décadas de vida, confirmando as observações de RODRÍGUES-CARBAJAL *et al.*, (1988) e de MACHADO *et al.*, (1988) que evidenciam que as faixas etárias são as economicamente mais produtivas. SALAZAR SCHETTINO *et al.*, (1990) encontraram em 200 pacientes da quinta década de vida. GARCÍA-ALBEA (1989) considera que a maioria dos casos são manifestações tardias da enfermidade que aliados à idade elevada indicariam seu caráter crônico. Essa informação também é partilhada por GUERRA *et al.* (1985) e por LARRALDE *et al.* (1992).

A cisticercose atinge igualmente pessoas de ambos os sexos (AUBRY *et al.*, 1995; SOTELO *et al.*, 1985; MACHADO *et al.*, 1988; VIANNA *et al.*, 1986; ALVAREZ RUBIO e NAZAR, 1989; SPINA-FRANÇA *et al.*, 1993).

RODRÍGUES-CARBAJAL *et al.*, (1988) em um levantamento no México entre 1976 e 1981, encontraram positividade em 51% de mulheres e 49% de homens analisando o líquido cérebro-espinhal. MONTEIRO *et al.*, (1992) também encontraram uma leve tendência da enfermidade para atingir mais as mulheres (53%). GUERRA *et al.*, (1985) observaram que a enfermidade ocorreu três vezes mais em mulheres que em homens, justificando que talvez isso fosse devido ao pequeno tamanho da amostra examinada (12 pessoas). ALARCON EGAS *et al.*, (1988) e TAKAYANAGUI *et al.*, (1996) também encontraram maior número de mulheres em relação a homens. Porém, VICELLO (1983) fez um levantamento dos casos de neurocisticercose ocorridos no México entre 1971 e 1974 e encontrou um aumento dos casos no sexo masculino em relação ao feminino. COSTA-CRUZ *et al.*, (1995) realizaram 3.937 necropsias de 1971 a 1993 e encontraram uma positividade de 66% no sexo masculino. GARCIA-ALBEA (1989) estudou 52 casos de neurocisticercose, sendo 62% de homens, confirmando a experiência de outros autores (EARNEST *et al.*, 1987; SALAZAR SCHETTINO *et al.*, 1990; GANG-ZHI *et al.*, 1988).

Alguns autores relatam que algumas formas de neurocisticercose são mais severas em pessoas do sexo feminino (SOTELO e MARIN, 1987; RANGEL *et al.*, 1987; BRUTTO *et al.*, 1988; SARTI-GUTIERREZ *et al.*, 1988). Por outro lado, THURN (1988) argumenta que não há dados claros que demonstrem que esta hipótese seja verificada.

A maior parte dos autores relacionam a cisticercose com fatores sócio-econômicos e culturais baixos (SARTÍ GUTIÉRREZ e GUTIÉRREZ OSPINA, 1986; ALVAREZ-RUBIO e NAZAR, 1989; ORGANIZACION PAANAMERICANA DE LA SALUD, 1994; SALAZAR

SCHETTINO *et al.*, 1990; BRUTTO e SOTELO, 1988; BRUTTO e SATELO, 1987). Porém, há alguns autores que não encontraram relação entre a enfermidade e estes fatores (WOODHOUSE *et al.*, 1982; JIMENEZ *et al.*, 1985; GARCIA *et al.*, 1995).

A presença de cisticercose em pessoas do meio urbano e de bom nível sócio-econômico dependeria da transmissão dos ovos por manipuladores de alimentos procedentes de áreas onde a enfermidade é bastante freqüente (ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, 1994; SCHANTZ *et al.*, 1992; MOORE *et al.*, 1995). Para evitar a transmissão de enfermidades por produtos de origem animal, a legislação vigente permite apenas a comercialização de produtos inspecionados. Entretanto, as frutas e verduras constituem uma das principais formas de transmissão da cisticercose devido à inadequada manipulação higiênica (BRUTTO e SOTELO, 1993).

A cisticercose humana normalmente é relacionada às más condições de saneamento do meio ambiente (CARRADA-BRAVO, 1987; SARTÍ-GUTIÉRREZ e GUTIÉRREZ OSPINA, 1986; VICELLO, 1983; SCHENONE e ROJAS, 1988; VIANNA *et al.*, 1986; ARRUDA *et al.*, 1990; KEILBACH *et al.*, 1989; SARTI *et al.*, 1992). Alguns autores também vinculam a enfermidade aos hábitos individuais de higiene (SARTÍ GUTIÉRREZ e GUTIÉRREZ OSPINA, 1986; CARRADA-BRAVO, 1987). A criação de suínos do tipo doméstico de subsistência, com os animais soltos e com livre acesso a fezes humanas contribui para completar o ciclo do parasita (BELOTTO, 1994; ACEVEDO-HERNÁNDEZ, 1982). A cisticercose é mais freqüente em pessoas que têm contato com áreas rurais (GANG-ZHI *et al.*, 1988; ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, 1994; SCHENONE *et al.*, 1982; GARCÍA-ALBEA, 1989; ALVAREZ RUVIO e NAZAR, 1989).

A teniose é um fator importante para o aparecimento da cisticercose humana. Há inter-relação entre teniose e cisticercose (SALAZAR SCHETTINO *et al.*, 1990). Foram encontrados antecedentes de teniose em 27% dos enfermos com cisticercose cerebral, a maioria durante a infância (GARCÍA-ALBEA, 1989). Em um inquérito clínico-epidemiológico em área endêmica para teniose-cisticercose, SILVA-VERGARA *et al.* (1994) examinaram 1.080 pacientes e observaram em 18,3% antecedentes de expulsão de proglotes de *Taenia*. ALARCON EGAS *et al.* (1988) encontraram 16,92% de pacientes positivos para neurocisticercose com história pessoal prévia de teniose de um mês a 15 anos antes do diagnóstico da presença de cisticercos. Os autores enfatizam a importância da história pessoal prévia e da história familiar de teniose na transmissão da cisticercose. SCHENONE *et al.*

(1982) afirmam que a teniose acompanha 15,5% dos pacientes com neurocisticercose. EARNEST *et al.*, (1987) citam que a presença de ovos ou proglotes de *Taenia* nas fezes são indicadores de neurocisticercose, porém estes achados são infreqüentes. SART-GUTIÉRREZ *et al.*, (1988) associaram os hospedeiros de *Taenia* a pacientes com história clínica sugestiva de neurocisticercose ou a pacientes positivos pela sorologia que pertencem à mesma família.

2.4.5 SINTOMATOLOGIA CLÍNICA

ZENTENO-ALANIS (1982) categoriza os pacientes com cisticercose de acordo com a localização dos parasitas. Há a forma disseminada (com localização nas vísceras, pele e músculos), a oftalmocisticercose (nos olhos e órbita), a neurocisticercose (no sistema nervoso central), e finalmente a forma mista com mais de uma das localizações acima citadas. A neurocisticercose ainda pode ser classificada topograficamente em espinhal e cerebral.

Os cistos se localizam mais freqüentemente no sistema nervoso central (60 a 90% dos casos) e o parasita vive entre 18 meses e 2 anos, ou até um período maior. O período de incubação é em média de 4 a 8 anos (AUBRY *et al.*, 1995), podendo variar de alguns meses a vários anos (AUBRY *et al.*, 1995; EARNEST *et al.*, 1987; ACHA e SZIFRES, 1986). Em 78,6% dos casos de cisticercose o parasito se encontra no encéfalo (cisticercose cerebral) (SCHENONE *et al.*, 1982).

De acordo com a localização no sistema nervoso central e também com a resposta imunológica do hospedeiro, a neurocisticercose pode produzir diversos quadros clínicos. Os sintomas podem variar desde grave hipertensão intra-cranial decorrente de um processo inflamatório até quadros mais leves (RODRÍGUES-CARBAJAL *et al.*, 1988; SOTELO, 1987; BRUTTO e SOTELO, 1988; FERRANTE *et al.*, 1985). Pode inclusive não apresentar sintomas, como no caso dos granulomas calcificados que são diagnosticados acidentalmente (RODRÍGUES-CARBAJAL *et al.*, 1988; SOTELO *et al.*, 1985; MONTEIRO *et al.*, 1992), podendo construir um achado de necropsia (ZENTENO-ALANIS, 1982).

Os sintomas mais comuns são aqueles causados pelo aumento de pressão intracranial, caracterizados por cefaléia, náuseas e vômitos (TSUNG *et al.*, 1986; ALVAREZ RUBIO e NAZAR, 1989; ZENTENO-ALANIS, 1982), podendo ocorrer também tonturas e crises convulsivas (ESTANÖL *et al.*, 1989). Em 50% dos pacientes com neurocisticercose, MEDINA *et al.* (1990) verificaram sintomas de epilepsia. CRUZ *et al.*, (1995) destacam a

cefaléia como um importante sintoma de neurocisticercose em áreas endêmicas. Os autores examinaram 57 pacientes com enxaqueca, submetendo-se à tomografia computadorizada e 19 deles revelaram neurocisticercose, sendo encontradas lesões calcificadas únicas ou múltiplas em 15 pacientes.

A doença cerebrovascular é uma complicação freqüente da neurocisticercose (ZENTENO-ALANIS, 1982; BRUTTO, 1992; RODRÍGUES-CARBAJAL *et al.*, 1988).

Os cisticercos podem se apresentar isoladamente ou em grande número, podendo também estar dispersos ou agrupados. (BRUTTO e SOTELO, 1988).

As lesões podem variar desde a cisticercose ativa até granulomas e calcificações, que são seqüelas dos cistos que foram destruídos pelo hospedeiro. Mais de 50% dos pacientes com diagnóstico de neurocisticercose têm seqüelas da enfermidade apresentando formas inativas (granulomas, calcificações e fibrose) (SOTELO, 1987; SOTELO *et al.*, 1985; GONÇALVES – COELHO e COELHO, 1996; BHOOPAT *et al.*, 1989). Este fato é confirmado por ALARCON EGAS *et al.* (1988) e por TAKAYANAGUI *et al.* (1996) que encontraram as calcificações como achado mais freqüente na tomografia computadorizada (respectivamente em 64,61% e 90,4% dos pacientes).

O cisto pode ser destruído em alguns meses e dá lugar a tecido granulomatoso, que sofrerá calcificação dentro de alguns anos. Outras vezes o cisto pode permanecer ativo por um período de 10 anos (SOTELO, 1987). Logo que o embrião hexacanto se estabelece no sistema nervoso central, formam-se os cisticercos. Na primeira fase de desenvolvimento do parasita ocorre a formação de uma membrana com líquido claro no interior. De acordo com a reação imunológica do hospedeiro, passa à fase seguinte que é a etapa coloidal, na qual o líquido é viscoso e turvo. Após, a parede do cisto engrossa e a larva(que não é mais viável) toma um aspecto granular (etapa granular nodular). Finalmente, o cisticerco entra numa etapa calcificada. Não se sabe exatamente a duração de cada uma destas etapas, porém admite-se haver diferenças individuais dependendo do hospedeiro (BRUTTO e SOTELO, 1993).

A resposta frente ao parasita pode variar desde tolerância imune até hipersensibilidade. A resposta do hospedeiro se reflete na sintomatologia, podendo haver pacientes com infestação maciça praticamente assintomáticos e outros pacientes apresentarem grave sintomatologia com poucos cisticercos (BRUTTO e SOTELO, 1987). Para ZENTENO-ALANIS (1982) a sintomatologia é devida à compressão mecânica e deslocamento de tecidos causado pelo cisticerco ou pela resposta imune do hospedeiro. Esta reação não é bem

compreendida e pode ocorrer repentinamente, mesmo em pacientes assintomáticos. Os sintomas também podem desaparecer por um determinado período ou até permanentemente.

2.4.6 DIAGNÓSTICO

O primeiro método de eleição para diagnóstico da neurocisticercose é a tomografia computadorizada (BRITO, 1987), por ser considerado o método mais sensível (RODRÍGUES-CARBAJAL *et al.*, 1988). A ressonância magnética é inferior à tomografia computadorizada na localização das lesões (BOUILLIANT-LINET *et al.*, 1988; BRUTTO e SOTELO, 1987).

Para certificar-se de uma doença ativa pode-se recorrer ao diagnóstico imunológico. Realiza-se então, o teste de ensaio imunoenzimático do líquido céfalo-raquiano que possui alta sensibilidade e especificidade para as formas ativas (COOK *et al.*, 1994; ROSAS *et al.*, 1986). Porém, ARRUDA *et al.* (1990) revelam que testes imunológicos no líquido céfalo-raquiano (fixação de complemento e imunofluorescência) têm baixa sensibilidade em pacientes com neurocisticercose calcificada, sendo geralmente negativos, confirmando as observações de outros autores (NIETO, 1982; DEODARI e KALRA, 1987; SARTI *et al.*, 1994; SARTI *et al.*, 1992).

Não se utiliza o diagnóstico imunológico através de sorologia por ter baixa sensibilidade e especificidade (COOK *et al.*, 1994; RAMOS-KURI, *et al.* 1992; ROSAS *et al.*, 1986, SARTI-GUTIERREZ *et al.* 1988), não sendo considerados testes confiáveis (SOTELO *et al.*, 1985; SOTELO, 1987).

Podem ocorrer resultados falso-positivos ou falso-negativos (positivos no exame do fluido cérebro-espinhal e negativos pela sorologia) por produção de anticorpos no líquido céfalo-raquiano, mas sem aumento destes anticorpos no sangue periférico (BRUTTO e SOTELO, 1988). A sorologia positiva relaciona-se com sintomatologia neurológica e o achado de anticorpos em um indivíduo assintomático não estabelece o diagnóstico de neurocisticercose por poder tratar-se de uma cisticercose localizada fora do sistema nervoso central, enquanto que a sorologia positiva pode indicar somente um contato prévio do paciente com o parasita (ovos, cisticercos ou o parasita adulto), podendo também se tratar de reação cruzada (por exemplo com hidatidose) (LARRALDE *et al.*, 1992). Finalmente,

ESTERRE *et al.* (1994) concluem a questão assinalando que o exame do soro ou do fluido cérebro-espinhal não são suficientes para um diagnóstico seguro para a neurocisticercose.

Atualmente duas técnicas imunológicas são mais utilizadas: o método imunoenzimático (ELISA) e o eletro-imuno-transfer-blot (EITB) (AUBRY *et al.*, 1995; GUSSO, 2000). Trabalhos recentes demonstram resultados promissores, no diagnóstico imunológico, utilizando saliva, porém não é comentado se estes testes também são sensíveis para detectar pacientes com neurocisticercose calcificada (FELDMAN *et al.*, 1990).

A possibilidade de produzir antígenos heterólogos obtidos a partir da multiplicação em camundongos, de formas larvárias de *Taenia crassiceps* já foi testada no Brasil (VAZ, 1993; MINOZZO, 1997; GUSSO, 2000). Em extratos antigênicos de *C. longicollis* utilizados na pesquisa de anticorpos em líquido cefalorraquiano, pelo método ELISA, foi pesquisado por VAZ (1993) que obteve sensibilidade e especificidade de 97,6% e 96,9% respectivamente. Pacientes humanos apresentando cistos íntegros ou em degeneração apresentaram 100% de positividade para anticorpos da classe IgG no teste ELISA com antígeno de líquido vesicular de *Cysticercus longicollis* em amostras de líquido cefalorraquiano. (BUENO, 1999). A *Taenia crassiceps* (ZEDER, 1800) pertence ao filo *Platyhelminthes*, à classe *Cestoda*, à ordem *Cyclophyllidea* e à família *Taeniidae*. Os hospedeiros definitivos são raposas (*Vulpes vulpes* L.). Esta *Taenia* tem sido usada como antígeno para pesquisa de anticorpos anti- *C. cellulosae*. A vantagem deste parasito é que a forma metacestoda pode ser mantida viva em camundongos através de repiques. A reprodução das larvas é assexuada por brotamento (VAZ, 1993), e mantida por passagens intraperitoniais sucessivas, em camundongos fêmeas Balb/c de oito a doze semanas de idade (VAZ; NAKAMURA; BARRETO, 1997).

Apesar da importância da tomografia computadorizada no diagnóstico da neurocisticercose, este método apresenta uma séria limitação econômica (SILVA-VERGARA *et al.*, 1994).

A ausência de métodos de diagnóstico por imagem nos países em desenvolvimento, explicaria o interesse pelo diagnóstico imunológico (AUBRY *et al.*, 1995). Entretanto, GARCIA e SOTELO (1989) discordam alegando que alguns testes são difíceis de serem realizados em alguns países que possuem poucos laboratórios de referência, sendo difícil e com alto custo a realização de determinados testes como o método imunoenzimático.

2.4.7 TRATAMENTO

O tratamento da neurocisticercose pode ser simplesmente sintomático, ou antiparasitário, ou ainda cirúrgico, dependendo do número, tamanho, localização e grau de atividade dos cistos (RODRIGUES-CARBAJAL *et al.*, 1988; ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, 1994). O tratamento antiparasitário pode ser feito com albendazol ou praziquantel (COULDWELL e APUZZO, 1992; ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, 1994).

2.4.8 MEDIDAS GERAIS PARA O CONTROLE

A aplicação de medidas para o controle da teniose/cisticercose depende das características epidemiológicas da enfermidade na região, condições econômicas, sociais e culturais. A estratégia fundamental consiste em interromper o ciclo evolutivo do parasita, afim de evitar a infecção nos animais e na população humana (ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, 1994). Qualquer controle deve reconhecer a multiplicidade de fatores que interagem para a ocorrência da enfermidade, sejam fatores biológicos, ou o impacto sócio-ecológico na dinâmica de transmissão (GEMMEL, 1987). As estratégias consistem fundamentalmente em: melhoramento das condições de saneamento do meio ambiente; tratamento de toda a população; melhoramento da criação de animais (evitar o acesso de animais a fezes humanas); incrementar a inspeção veterinária de produtos cárneos; evitar o abate e comércio de produtos clandestinos; educação em saúde enfatizando a adoção de hábitos de higiene (ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD, 1994; GEMMEL *et al.*, 1983; REIFF, 1994). Para países endêmicos, além das medidas citadas acima, poderiam ser adotadas medidas para o congelamento da carne com o objetivo de diminuir a transmissão da enfermidade (SOTELO *et al.*, 1986).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Procedência dos animais

O material utilizado para a realização do estudo constituiu-se de 26.633 animais, na maioria bovinos azebuados, machos e fêmeas, de grupo etário variando de 18 meses a 60 meses. Os animais procedentes de vários municípios do Estado do Paraná, foram devidamente identificados e abatidos no matadouro – frigorífico Argus Ltda, SIF 1710, localizado no município de São José dos Pinhais, Região Metropolitana de Curitiba – Paraná, no período de julho a dezembro de 2000.

3.2 MÉTODOS

Os animais foram abatidos conforme tecnologia de produção padrão para bovinos. Os trabalhos de inspeção nas linhas foram desenvolvidos por uma equipe composta de sete agentes de inspeção devidamente treinados para desenvolver os trabalhos de inspeção pós-morte, sob supervisão e responsabilidade de um Médico Veterinário do Serviço de Inspeção Federal (SIF). Os exames de rotina desenvolvidos na pesquisa da cisticercose bovina nas linhas de inspeção (cabeça, língua, coração, diafragma e esôfago), basearam-se nas normas padronizadas pelo SIF (BRASIL, RIISPOA, 1980).

Caso fossem encontrados cisticercos nas linhas de inspeção, as lesões eram identificadas e as meias-carcaças, juntamente com as vísceras e cabeça, eram encaminhadas para o D.I.F. (Departamento de Inspeção Final) onde eram examinadas pelo veterinário, conforme procedimentos regulamentares. Os dados eram anotados em papeleta específica do D.I.F. .

3.2.1 COLHEITA DE CISTICERCOS PARA IDENTIFICAÇÃO

Quando os cisticercos eram detectados nas linhas de inspeção e após o destino das carcaças no D.I.F., procedia-se a coleta dos cistos. Estes eram acondicionados em sacos plásticos devidamente identificados com uma etiqueta adesiva, na qual constava o número do lote, número do bovino e data do abate. Simultaneamente era preenchido uma ficha com os dados individuais de cada animal; conforme observações realizadas. Constavam os itens: data de abate, número de animais do lote, quantidade total de animais abatidos no dia, classificação

de abate, número de animais do lote, quantidade total de animais abatidos no dia, classificação dos cistos (vivos, caseosos e calcificados), localização anatômica do cisto, número de cistos localizados, idade e sexo do animal.

Os cistos devidamente acondicionados em caixas isotérmicas eram transportados ao laboratório para que fosse feita a identificação.

3.2.2 COLHEITA DE SANGUE E SEPARAÇÃO DO SORO PARA ANALISE IMUNOLÓGICA

Dos animais que apresentavam cisticercos era coletado o sangue da artéria braquial e acondicionados em tubos de ensaio descartável identificado com a data de abate, número do animal e do lote.

O sangue, juntamente com os cistos, era enviado ao laboratório para obtenção do soro.

O sangue era submetido à centrifugação por 5 minutos a 5000 rpm para obtenção do soro. Em seguida, o soro obtido era pipetado e acondicionado em tubos plásticos com tampa (Eppendorf), identificados por data, número do animal, número do lote e imediatamente submetidos ao congelamento em freezer comercial à temperatura média de -8 °C até a sua utilização na prova de ELISA.

3.2.3 GRUPO CONTROLE

Quando na inspeção, pós-morte não foi observado cisto o animal foi considerado negativo para cisticercos. No total foram colhidos o sangue de 100 animais para constituir o grupo controle. O sangue foi enviado para o laboratório para se proceder a obtenção do soro, utilizando-se a técnica descrita no item 3.2.2.

Em seguida os soros foram identificados e congelados para submeterem-se, em etapa posterior, ao método de ELISA.

3.2.4 EXAME PARASITOLÓGICO DOS CISTOS

Os cistos foram classificados como vivos e degenerados.

Vivos podendo ser:

Imaturos, quando possuíam coloração esbranquiçada, forma gelatinosa, não se distinguindo protoescoléx e quando submetidos ao processo de desinvaginação esta não ocorria.

Maduros, continham protoescólex e quando submetidos ao processo de desinvaginação o escólex apresentou motilidade.

Degenerados podendo ser:

Caseosos, quando apresentavam conteúdo pastoso de coloração amarelada;

Calcificados, quando apresentavam em seu interior material sólido, perceptível ao tato, especialmente quando o cisto era cortado.

A identificação dos cisticercos foi feita após o processo de desinvaginação dos cistos vivos, os quais foram processados individualmente.

Primeiramente era retirada a massa muscular e rompia-se a cápsula do cisto (camada externa do tecido inflamatório do hospedeiro) em seguida os cistos eram colocados na placa de petri com bile bovina fresca. O material era incubado a 37°C por 10 a 15 minutos.

O processo de desinvaginação ocorreu seguindo uma ordem gradual de acontecimentos: abertura do canal espiral, desinvaginação das estruturas invaginadas começando com a superfície mais próxima da abertura externa do canal espiral, seguindo-se pelas pregas transversas do canal espiral, escólex, colo e pseudo-estróbilo.

3.2.5 FIXAÇÃO, CONSERVAÇÃO E COLORAÇÃO DOS CISTICERCOS

A fixação dos cisticercos foi feita logo após o processo de desinvaginação, enquanto eles ainda estavam vivos. Os cisticercos foram colocados entre lâminas, sofrendo uma leve compressão, e em seguida colocados em uma placa de petri que continha líquido de Railliet e Henry (ANEXO 2), permanecendo por 24 horas. O líquido por capilaridade entrava em contato com a larva fazendo a fixação da mesma. O líquido de Railliet e Henry funciona também como solução conservadora, podendo o cisticerco permanecer nesta solução até a etapa de coloração.

O método utilizado para corar o cisticerco foi o do Carmim Clorídrico (ANEXO 2).

3.2.6 LEITURA EM MICROSCOPIA ÓPTICA

As lâminas foram lidas em microscópios ópticos, visualizando-se o protoescólex, colo e pseudo-estróbilo, diferenciando-se o *Cysticercus bovis* do *Cysticercus cellulosae* pela ausência da dupla coroa de ganchos (Quadro 2, FIGURA 3 e 4).

QUADRO 2 – RESUMO DAS PRINCIPAIS DIFERENÇAS ENTRE *TAENIA SAGINATA* E *TAENIA SOLIUM*.

CARACTERÍSTICAS	<i>TAENIA SAGINATA</i>	<i>TAENIA SOLIUM</i>
FREQUÊNCIA	Mais freqüente	Menos freqüente
PARASITA ADULTO		
Comprimento	4 a 12 m, extremo 25 m	1,5 a 4 m, extremo 8 m
Número de Proglotes	1.000 a 2.000	700 a 900
ESCÓLEX		
Forma	Periforme e inerme	Cubóide com rostro e dupla coroa de acúleos
Diâmetro	1 a 2 mm	0,6 a 1 mm
COLO		
Comprimento	Longo	Curto
PROGLOTES MADUROS		
Número de testículos	300 a 400	150 a 300
Número de lobos do ovário	2	3
Esfincter vaginal	Presente	Ausente
PROGLOTES GRÁVIDOS		
Comprimento	20 a 30 mm	10 a 12 mm
Largura	5 a 7 mm	5 a 6 mm
Ramificações uterinas	15 a 30 estreitas e dicotômicas	6 a 16 dendríticas ou arborescentes
OVOS		
Forma	Redondos e ovalados	Arredondados
Diâmetro	45 a 48 x 43 a 45 mm	40 a 42 mm
Coloração de Ziehl-Neelsen	Retém o corante	Não retém o corante
CISTICERCOSE HUMANA		
Ocorrência	Não	Sim
CISTICERCO		
Forma	Alongado	Elíptico
Diâmetro	7 a 10 mm x 4 a 6 mm	10 a 20 mm
Membrana externa	Mais opaca	Mais transparente

FONTE: LAPAGE, 1981; BORCHERT, 1981; PESSOA e MARTINS, 1988; REY, 1991.



FIGURA 3 – Escólex de *Cysticercus bovis* obtido por fotomicrografia na microscopia óptica. Aumento de 100 x. Curitiba, PR, Brasil, 2001.

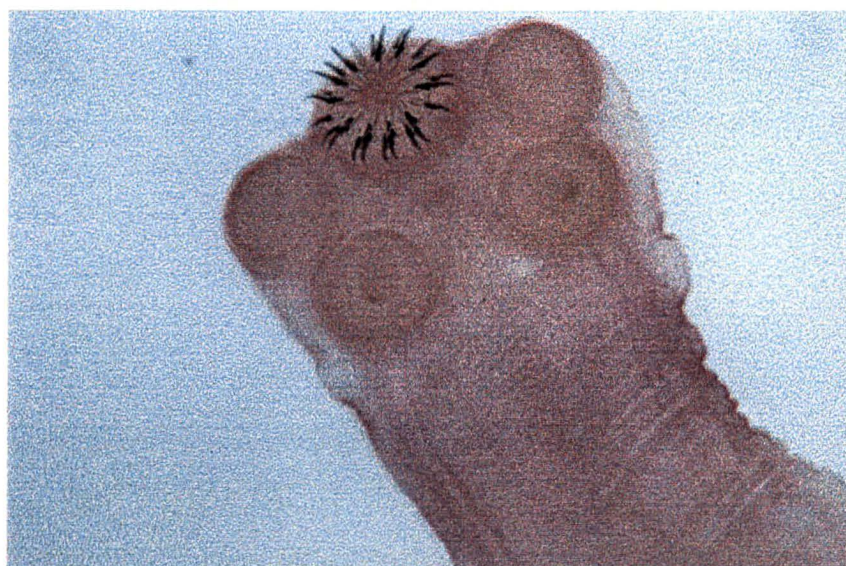


FIGURA 4 – Escólex de *Cysticercus cellulosae* obtido por fotomicrografia na microscopia óptica. Aumento de 100 x. Curitiba, PR, Brasil, 2001.

3.3. MÉTODO ELISA (ENZYME-LINKED-IMMUNOSORBENT-ASSAY) PARA PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-*Cysticercus bovis*

A concentração de antígeno usada no presente trabalho foi de 10µg/ml por orifício da microplaca. A concentração ótima foi determinada segundo MINOZZO *et al.* (1997) e GUSSO (2000). Para determinação da concentração do antígeno de *Cysticercus longicollis* por orifício visando a realização do método imunoenzimático, efetuou-se reação em bloco utilizando-se seis concentrações de antígeno (05 µg/ml, 10 µg/ml, 15 µg/ml, 20 µg/ml, 30 µg/ml e 40 µg/ml) frente a 11 diluições de soro (1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512 e 1/1024). Foram utilizadas também amostras controles negativos e branco. Pela reação em bloco determinou-se que a concentração é de 10 µg/ml.

Para proceder a sensibilização das placas preparou-se solução tampão de carbonato – bicarbonato pH 9,6 (0,5M) (ANEXO 2):

- armazenou-se a solução preparada sob temperatura de 4°C,
- para sensibilização da placa com antígeno de *Cysticercus longicollis* para o método imunoenzimático, diluiu-se o conteúdo do frasco de antígeno em 1ml de água destilada. A esse volume acrescentou-se 129 ml de solução tampão carbonato – bicarbonato.
- distribuiu-se 100µl da solução antigênica na concentração de 10 µg/ml nos orifícios da microplaca de orifícios com fundo chato para sensibilizá-la,
- incubou-se por duas horas a temperatura ambiente e, na sequência por 18 horas a 4°C tampada,
- lavou-se a microplaca com tampão de lavagem 6 vezes com auxílio de lavadora automática,
- preparou-se o tampão de lavagem com NaCl e Tween 20
- esta solução foi armazenada em geladeira até seu uso. Inverteu-se a placa sobre um papel absorvente para retirar o excesso de umidade. A placa já sensibilizada foi mantida em freezer à -20°C.

Para realização do método imunoenzimático foram processadas as seguintes etapas:

- colocou-se 100 µl de tampão de diluição nas demarcações A1 e A2 da microplaca para estabelecer o branco da reação;

- 100 µl de soro na diluição 1/200 a serem estudados, foram colocados nos demais orifícios da microplaca previamente sensibilizada com os antígenos de *Cysticercus longicollis*;
- nas últimas demarcações das placas foram colocados os controles negativos e controles positivos (soros de referência);
- cobriu-se a placa com papel adesivo e agitou-se à mão;
- colocou-se a microplaca na incubadora por 60 minutos a 37° C;
- lavou-se seis vezes a microplaca com auxílio de lavadora automática utilizando-se solução tampão de lavagem;
- ao final, o líquido dos orifícios foi retirado invertendo-se a placa;
- adicionou-se 100 µl do conjugado anti-IgG bovina (ANEXO 3) ligada com peroxidase, diluindo-o em solução tampão; repetiu-se os processos de incubação e lavagens;
- pesou-se em balança de precisão 10 mg de OPD e dilui-se em 10 ml de solução tampão de citrato fosfato 0,2M pH 5,0, seguindo-se da adição de 10 µl de água oxigenada a 30%;
- o reagente foi preparado em frasco âmbar sem exposição à ação da luz;
- adicionou-se 100 µl de substrato OPD (o-Phenyldiamine 2HCl);
- incubou-se a placa por 10 minutos a 37° C no escuro;
- interrompeu-se a reação pela adição de 20 µl de bloqueador (solução de ácido sulfúrico 4N);
- procedeu-se a leitura da densidade óptica no leitor de microplaca utilizando-se um filtro com comprimento de onda de 492 nm;
- fez-se a média da densidade óptica dos brancos situados nas posições A1 e A2 e descontou-se de todas as leituras este valor. Obteve-se, então, as densidades ópticas de cada amostra.

DIAGRAMA DO MÉTODO ELISA

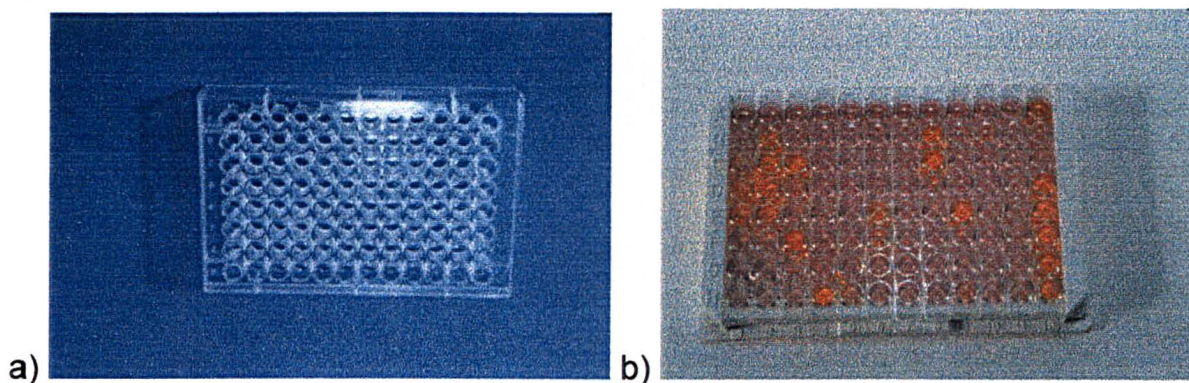
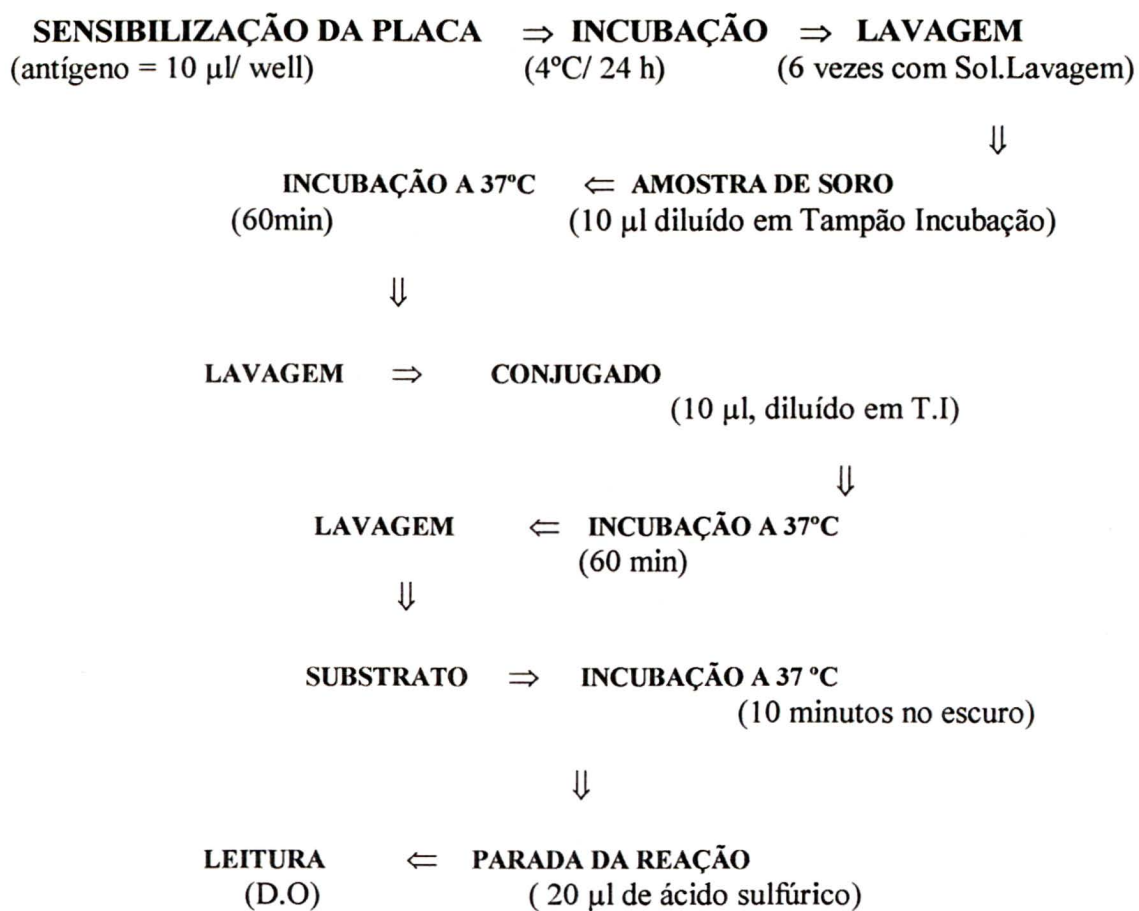


FIGURA 5. Método ELISA. a) microplaca sensibilizada com antígeno. b) microplaca após reação imunoenzimática visualizando-se orifícios com alteração cromática.

3.3.1 TITULAÇÃO DO CONJUGADO ANTI-IgG BOVINA LIGADO COM PEROXIDASE PARA MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO

Para titular o conjugado anti-IgG bovino, ligado com peroxidase para técnica de ELISA, procedeu-se as seguintes operações:

- preparou-se solução tampão com solução de salina fosfatada (PBS) com Tween 20 e gelatina para diluições de soro,
- selecionou-se duas microplacas sensibilizadas com antígenos de *Cysticercus longicollis*,
- selecionou-se uma amostra de soro positiva para cisticercose bovina com título conhecido. Foram aplicados na placa a quantidade de 100 µl soro de título conhecido, mais 100 µl de solução tampão com duas diluições: 1/5500 e 1/6000 .

3.3.2 CÁLCULO DO PONTO DE CORTE DO MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO PARA DIAGNÓSTICO DA CISTICERCOSE

Para o cálculo do ponto de corte da reação foram realizadas as seguintes operações:

- 1) foram selecionadas 28 amostras de soro, com exame pós-morte negativo para cisticercose ;
- 2) para o método imunoenzimático foram utilizadas três microplacas sensibilizadas previamente, conservadas à -20°C;
- 3) as microplacas ficaram em temperatura ambiente até o completo descongelamento;
- 4) reservou-se os dois primeiros orifícios para o branco (A1 e A2) onde colocou-se 100 µl de tampão de diluição;
- 5) colocou-se a partir do orifício A3 100 µl de cada amostra soro em seqüência. Nos orifícios A1 e A2 colocou-se 100 µl do tampão de diluição, para cálculo do branco;
- 6) no último poço da microplaca aplicou-se amostra de soro controle positivo. As amostras não foram examinadas em duplicata;
- 7) foi procedido o método imunoenzimático para cisticercose bovina;
- 8) com os resultados do método imunoenzimático concluiu-se as densidades ópticas dos orifícios A1 e A2 (branco) da placa e dividiu-se por 2 que foi a média do branco;
- 9) descontou-se o valor do branco das densidades ópticas de todas as amostras que foi a densidade óptica real das amostras;

10) somou-se todas as densidades ópticas da placa dividindo-as por 28 para obter a média da densidade óptica. Foi excluída da soma a densidade óptica do controle positivo pois este foi testado para verificar se a reação aconteceu (ANEXO 4);

11) calculou-se o desvio padrão da reação utilizando a seguinte fórmula (SPIEGEL,1976):

$$s = \sqrt{\sum[(\varpi_2 - \varpi)^2] / n}$$

\sum = somatória

ϖ_2 = densidade óptica de cada paciente

ϖ = média das densidades ópticas

n = número de amostras.

O ponto de corte foi a média das densidades ópticas acrescido duas vezes do desvio padrão (s)

Os testes imunológicos podem ser apenas qualitativos (desencadear um sinal) ou também quantitativos, que se exprime em um título. Define-se como título de uma solução (soro, líquido cefalorraquiano, sangue, ou outros fluídos pesquisados) a maior diluição da mesma capaz de desencadear o sinal de positividade. Esta diluição corresponde ao “ponto de viragem” ou “end-point” da reação. Os títulos dos soros de uma população com diagnóstico verdadeiro de uma distribuição normal (FIGURA 7, curva B). Os títulos médios correspondem à maior frequência e os mais altos e mais baixos, a frequências progressivamente menores.

Quando se pesquisa os verdadeiros negativos, ou seja, não portadores da afecção, temos uma curva semelhante, porém com níveis médios sensivelmente inferiores (FIGURA 7, curva A). A área comum às duas curvas, dependendo do teste, pode ser maior ou menor. Nesta, a reatividade representa pela curva A, decorre de reações inespecíficas devidas a anticorpos de resposta a estímulos antigênicos os mais variados, às variáveis não controláveis, por apresentarem um ou mais determinantes antigênicos comum com o agente infeccioso. A área comum representada pela curva B, corresponde à reações específicas. É a situação de discriminar doentes de não doentes, ou seja, título diagnóstico. Este corte ou “cut-off” pode ser colocado, arbitrariamente em diferentes níveis (FIGURA 6). Para o “cut-off” na posição “X”, temos o máximo de sensibilidade e o mínimo de especificidade do teste. Para o “cut-off”

em “Z”, a especificidade é máxima e a sensibilidade é mínima. O “cut-off” em “Y”, é um equilíbrio entre ambos, representando a máxima sensibilidade para especificidade máxima. A escolha do “cut-off” dependerá dos objetivos a que o teste se destina. Quando desejamos identificar todos os indivíduos portadores da doença pesquisada, usamos o “cut-off” com a sensibilidade máxima e especificidade de falsos positivos. Quando o objetivo é o diagnóstico clínico, deve-se usar “cut-off” com especificidade máxima, mesmo que para isso tenha sensibilidade reduzida.

Pelas figuras 6 e 7, vê-se que o resultado de um teste sorológico tem valor diagnóstico de probabilidade. Ou seja, a probabilidade de que um resultado considerado positivo corresponda a doença, é maior quanto mais alto for o título. Inversamente, para um resultado considerado negativo, a probabilidade de não doença é maior quanto mais baixo for o título.

Limiar de reatividade (“cut-off”) do teste de ELISA foi calculado para o antígeno extrato salino parcial de *Cysticercus longicollis*. Para estabelecer o “cut-off” foi utilizado a média aritmética dos valores de absorbância, a esta acrescentou-se o valor de dois desvio padrão da média.

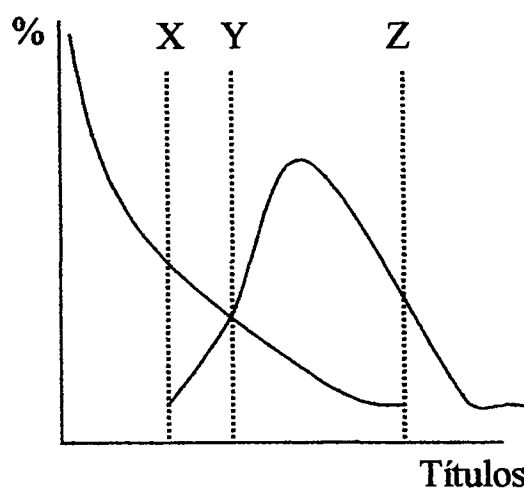


FIGURA 6 – Diferentes cortes discriminatórios entre Testes positivos e negativos.

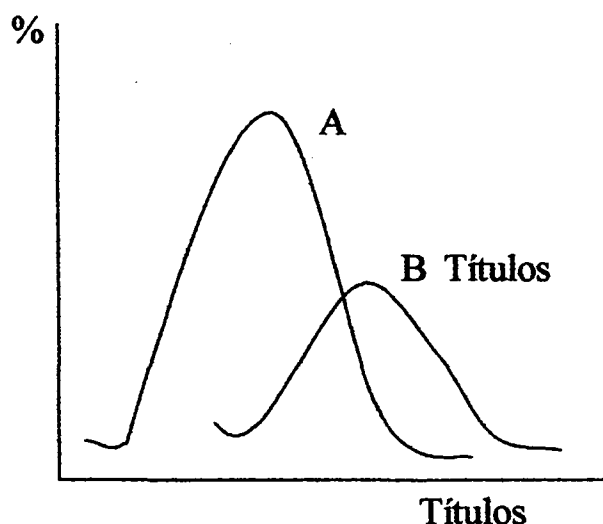


FIGURA 7 – Curvas de distribuição de frequência de títulos de pacientes com diagnóstico verdadeiro: A) não infectados e B) infectados

Em função da finalidade a que o teste se destina pode-se alterar a fórmula de calcular o “cut-off”. Neste trabalho definimos como a média mais 2 vezes o desvio padrão, tornando-o de menor valor, desta forma mais sensível, porém, menos específico. Poder-se-ia também, estabelecer o “cut-off” agregando-se à média mais três vezes o valor do desvio padrão, com valor superior a prova seria mais específica, porém, menos sensível (SMITH, 1991).

3.3.3 PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO DE ELISA

Para a padronização do método imunoenzimático (ELISA) três etapas são necessárias; a padronização do antígeno, a diluição do soro e a diluição do conjugado.

As duas etapas iniciais foram definidas previamente por MINOZZO (1997) e GUSSO (2000). Para a padronização da diluição do conjugado anti-IgG bovino ligado com peroxidase duas diluições foram testadas 1:5500 e 1:6000.

Procedem-se as seguintes operações:

- Preparou-se a solução tampão com salina fosfatada (PBS), Tween 20 e gelatina para a diluição do soro bovino.
- Selecionou-se duas microplacas sensibilizadas com antígeno de cisticercose;
- Selecionou-se uma amostra de soro positivo para cisticercose com título conhecido.

- Foram aplicadas nas placas a quantidade de 100µl do soro de título conhecido (1:200), mais 100µl de solução tampão.
- Na linha “A” onde consta a letra “B” aplicou-se 100µl de tampão de diluição cujas densidades ópticas serviram para cálculo do branco da reação; a seguir aplicou-se na linha “H” da microplaca amostra de soro controle negativo para cisticercose (CN) diluição 1200.

Procedeu-se as etapas para a realização do método de ELISA:

- Incubação por 60 minutos a 37 °C , seis lavagens em lavadoura automática e inversão das placas para retirada do excesso de líquido;
- Aplicou-se o conjugado a titular nas microplacas, sendo uma diluído a 1:5500 e outra diluído a 1:6000.
- Em seguida procedeu-se a incubação por 60 minutos a 37 °C, seis lavagens e inversão das placas;
- Aplicou-se 100µl do substrato (OPD) diluído em solução de diluição (10mg de OPD + 10ml de tampão citrato-fosfato 0,2M, pH 5,0 + 10µl de água oxigenada a 30%), incubou-se por 10 minutos ao abrigo da luz em temperatura de 37 °C;
- Para interromper a reação aplicou-se 20µl de ácido sulfúrico (H₂SO₄) em cada orifício;
- Foi procedida a leitura automática no leitor de placa com filtro de 492 Mm;
- Em posse das D.O. obtidas para cada orifício, descontou-se a leitura da média dos brancos, obtendo-se desse modo a D.O. real.

3.4. MÉTODOS ESTATÍSTICOS

3.4.1. MATRIZ PARA CÁLCULO DE INDICADORES DE SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE

Para cálculo dos coeficientes para avaliação comparativa e epidemiológica dos testes diagnóstico as fórmulas utilizadas basearam-se no modelo para avaliação de um teste diagnóstico e matriz para os cálculos (PEREIRA, 1995).

TABELA 1 - Matriz para cálculo de indicadores:

Teste	Positivo (cisticercose)	Negativos (sadios)	Total
Positivo	Verdadeiro positivo (a)	Falso-Positivo (b)	a+b
Negativo	Falso-Negativo (c)	Verdadeiro-Negativo (d)	c+d
Total	a+c	B+d	n

O índice de Youden traduz a eficácia diagnóstica do teste e tem como valor máximo 1 (Glossário).

Para a análise dos dados foi utilizado o teste não-paramétrico Qui-Quadrado com correção de Yates obtido pelo software "Epi-Info" (Dean 1997, software).

4. RESULTADOS

4.1. RESULTADOS DO ESTUDO PARASITOLÓGICO

4.1.1. PREVALÊNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA CISTICERCOSE

A tabela 2 registra dados mensais e gerais sobre o número de animais abatidos e a prevalência de casos de cisticercose encontrados durante o período em que foi realizado o estudo junto ao estabelecimento sob SIF-1710 em São José dos Pinhais – Pr.

TABELA 2. Prevalência geral da cisticercose observada nos bovinos inspecionados no SIF-1710 no período de julho a dezembro de 2000.

ANO	MÊS	NÚMERO DE ANIMAIS ABATIDOS	NÚMERO DE CASOS POSITIVOS	PREVALÊNCIA EM %
2000	Julho	5.325	150	2,81
	Agosto	4.326	171	3,95
	Setembro	4.607	195	4,23
	Outubro	4.450	185	4,15
	Novembro	4.031	177	4,39
	Dezembro	3.894	142	3,64
		26.633	1.020	3,82

No período de seis meses foram abatidos 26.633 bovinos. Observou-se uma prevalência média de cisticercose de 3,82% (1.020 casos).

Nesse período, houve variações das prevalências mensais, que foram de 2,81% (150 animais em julho de 2000) até 4,39% (177 animais em novembro de 2000).

Os municípios paranaenses que mais contribuíram com animais para o abate foram: Cândói (1.474 animais) com prevalência de 3,6% de cisticercose, Paranavaí (1.446 animais) com prevalência de 4,1%, Guarapuava (1.293 animais) com prevalência de 3,4%, Laranjeiras do Sul (1.284 animais) com prevalência de 2,9%, Planaltina do Paraná (1.014 animais) com prevalência de 2,3%, Ponta grossa (740 animais) com prevalência de 4,3%, Adrianópolis (524 animais) com prevalência de 1,8%, região Metropolitana de Curitiba (455 animais) com prevalência de 4,6% e Cerro Azul (443 animais) com prevalência de 3,8%, conforme a figura 8. Os demais municípios pesquisados no presente estudo estão com sua respectiva prevalência de cisticercose e número de animais abatidos, registrados no ANEXO 6.

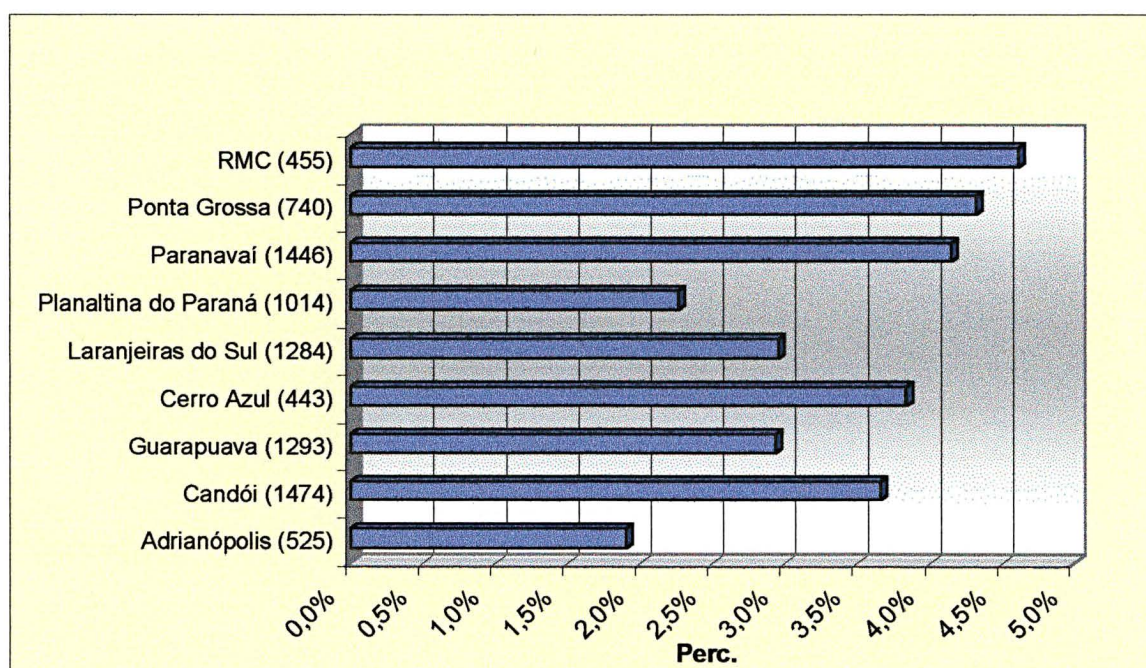


FIGURA 8. Distribuição geográfica e prevalência dos cisticercos encontrados no SIF-1710, no período de julho a dezembro de 2000, por município.

4.1.2. LOCALIZAÇÃO ANATÔMICA DOS CISTICERCOS.

Foram realizados os exames pós-morte de rotina nas linhas de Inspeção de bovinos, conforme determina o RIISPOA (Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de produtos de Origem Animal) no Artigo 176, Parágrafo 5º, identificando-se a lesão parasitária de cisticercos. Com o exame sistemático dos músculos masseteres, pterigóides, porção muscular do diafragma, coração, língua e esôfago, e, após procedendo o exame de reinspeção das carcaças desviadas para o DIF (Departamento de Inspeção Final) dos músculos do pescoço, músculos intercostais, peitorais e da paleta.

Observando-se a distribuição dos cisticercos na musculatura incisada, verificamos uma distribuição conforme a tabela 3, com a predominância para os músculos da cabeça (masseteres e pterigóides) com 57,77% dos casos, seguido do coração com 39,65% de prevalência.

TABELA 3.Localização anatômica e prevalência dos cisticercos identificados durante o abate dos bovinos no SIF-1710, no período de julho a dezembro de 2000.

LOCALIZAÇÃO	NÚMERO DE CISTOS	% ENCONTRADA
Cabeça	628	57,77
Coração	431	39,65
Língua	12	1,10
Diafragma	15	1,37
Esôfago	1	0,09
TOTAL	1.087	100

4.1.3.DISTRIBUIÇÃO ANATÔMICA DOS CISTICERCOS CONFORME SUA CLASSIFICAÇÃO

Os cisticercos encontrados foram classificados em cistos viáveis (vivos) e cistos degenerados (caseosos e calcificados), conforme descrição e critérios mencionados em material e métodos.

Os resultados obtidos encontram-se na tabela 4.

TABELA 4. Distribuição anatômica dos cistos conforme a sua classificação.

DISTRIBUIÇÃO ANATÔMICA	CISTO VIVO		CISTO CASEOSO		CISTO CALCIFICADO	
	NÚMERO	%	NÚMERO	%	NÚMERO	%
Cabeça	288	81	234	50	106	42
Coração	61	17	227	48	143	56
Língua	5	1	4	0,8	3	1
Diafragma	5	1	7	1,4	3	1
Esôfago	0	0	1	0,2	0	0
	359	100	473	100	255	100

Em relação ao estágio de desenvolvimento houve a predominância dos cisticercos degenerados (728) com 66,97% sobre os viáveis (359) com 33,02%.

Os cistos vivos tiveram predileção pela musculatura da cabeça (masseteres e pterigóides) com 288 cisticercos (81%) dos 359 detectados durante o estudo realizado; vindo a seguir o coração com 61 cisticercos (17%), língua com 5 cisticercos (1%), diafragma com 5 cisticercos (1%) e no esôfago não houve registro de nenhum cisticerco vivo.

Os cisticercos caseosos também tiveram predileção pela musculatura da cabeça com 234 cistos (50%) dos 473 observados; vindo a seguir o coração com 227 cistos (48%), diafragma com 7 cistos (1,4%), língua com 4 cistos (0,8%) e esôfago com 1 cisto registrado (0,2%).

Dos 255 casos de cistos calcificados tivemos 143 cisticercos (56%) no coração, 106 cisticercos (42%) na musculatura da cabeça, 3 cisticercos (1%) na língua, 3 cisticercos no diafragma (1%) e nenhum registrado no esôfago.

De um total de 1.020 casos positivos, 94% foram de animais monocisticercósicos e 6% de pluricisticercósicos. Essa detecção de cisticercos com localização solitária deve ser o principal objetivo dos Inspetores Veterinários de carnes, uma vez que a grande maioria revelou a presença de um só cisticerco por animal e por região anatômica examinada conforme o RIISPOA.

4.1.4. DISTRIBUIÇÃO DOS CISTICERCOS RELACIONADA COM O SEXO DOS ANIMAIS ABATIDOS

No presente estudo foram abatidos e inspecionados 26.633 bovinos, sendo 22.730 machos e 3.894 fêmeas. Na tabela 5 é dado a distribuição dos cistos relacionada com o sexo dos animais.

TABELA 5. Quantidade de bovinos abatidos no período de julho a dezembro de 2000 no SIF-1710 e a distribuição dos cisticercos encontrados por sexo dos animais.

SEXO	Nº DE ANIMAIS ABATIDOS	Nº DE CISTICERCOS ENCONTRADOS	%
Macho	22.730	868	3,82
Fêmea	3.894	152	3,90
TOTAL	26.633	1.020	3,83

Foram detectados 868 cisticercos (3,82%) nos bovinos machos abatidos, num total de 22.730 animais e 152 cisticercos (3,90%) nos bovinos fêmeas, de um total de 3.894 animais, totalizando entre machos e fêmeas 26.633 bovinos, no período de julho a dezembro de 2000 no SIF-1710.

4.1.5. FAIXA ETÁRIA DOS BOVINOS ABATIDOS E A DISTRIBUIÇÃO DE CISTICERCOS

A faixa etária dos bovinos abatidos foi determinada pela leitura dos dentes de leite e dos definitivos presentes na arcada dentária, conforme Portaria nº 612 de 05 de outubro de 1989 do MAPA que aprova o sistema nacional de tipificação das carcaças bovinas.

Os bovinos foram distribuídos em grupos de faixa etária de acordo com a idade em meses; iniciando-se o 1º grupo a partir de 18 meses de idade até 36 meses, o 2º grupo de 42 meses a 48 meses e o 3º grupo de 54 meses acima.

Os resultados obtidos encontram-se na tabela 6.

TABELA 6. Distribuição dos cisticercos detectados no SIF- 1710, no período de julho a dezembro de 2000, conforme a faixa etária dos bovinos abatidos.

IDADE	NÚMERO DE ANIMAIS	NÚMERO DE CISTOS	%
18-36 meses	15.980	720	4,50
36-48 meses	6.658	155	2,32
48 meses acima	3.995	145	3,63
TOTAL	26.633	1.020	3,83

4.1.6. IDENTIFICAÇÃO PARASITOLÓGICA DOS CISTOS VIVOS

Os cistos vivos que foram detectados no exame de inspeção pós-morte, foram identificados quanto à procedência, desinvaginados e fixados em lâminas conforme citado em material e métodos.

Na identificação microscópica óptica, em todos os 359 cistos vivos analisados foi possível visualizar o protoescólex, colo e pseudo-estróbilo. No protoescólex identificou-se as quatro ventosas e a depressão ventosiforme, confirmando ser *Cysticercus bovis*.

Nos demais cistos degenerados, não foi possível a identificação na microscopia óptica, portanto foram considerados também como *Cysticercus bovis*.

4.2. RESULTADOS DA PROVA DE ELISA

4.2.1 RESULTADO DA PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO ELISA

Considerou-se o título ideal aquele cuja densidade óptica do soro foi a mais próxima do conjugado de título conhecido. O método imunoenzimático ficou assim padronizado:

Concentração de antígeno – 10 µ g/orifício

Titulação do soro – 1: 200

Diluição do conjugado – 1: 5.500

Ponto de corte – 0,295

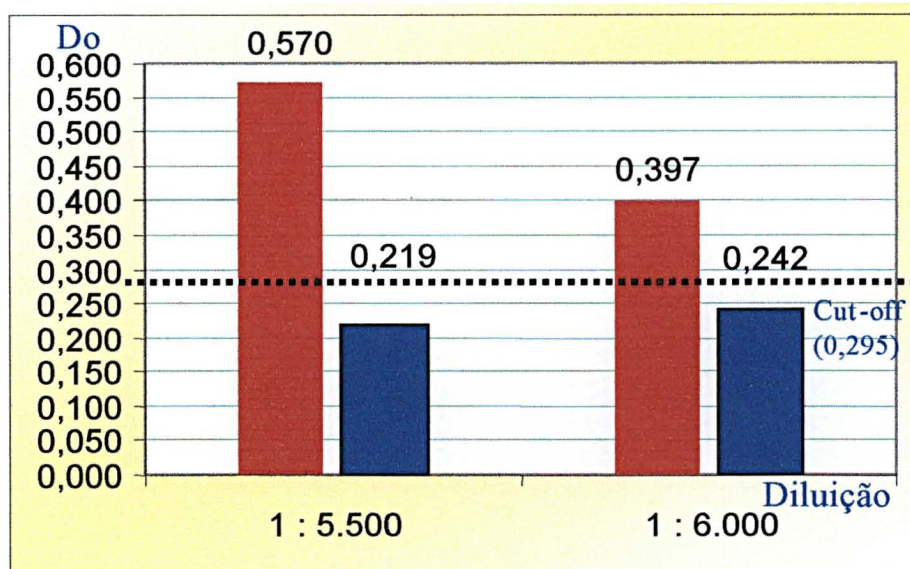


FIGURA 9 - Resultados obtidos com o método ELISA em soros bovinos positivos para cisticercos no exame pós-morte, visando titulação do conjugado Anti-IgG bovino com diluições 1:5500 e 1:6600.

4.2.2. ESTUDO DOS INDICADORES DO MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO DE AMOSTRAS COM DIAGNÓSTICOS PARASITOLÓGICOS POSITIVOS

Oitocentos e doze amostras de soro bovino de animais parasitologicamente comprovados para cisticercose e 28 de animais do grupo controle foram submetidos ao

método imunoenzimáticos (ELISA) utilizando-se o antígeno heterólogo *Cysticercus longicollis*.

São apresentados nas tabelas os indicadores de sensibilidade, especificidade, valores preditivos e índices de Youden, de concordância e de discordância dos testes realizados (Tabelas 7 a 9).

TABELA 7 – Número e percentual de animais testados pelo método imunoenzimático (ELISA), grupo de estudo e grupo controle, com antígeno de *Cysticercus longicollis*, Curitiba, Paraná, Brasil, 2001.

RESULTADOS	GRUPO DE ESTUDO	GRUPO CONTROLE
	ELISA CI	ELISA CI
REAGENTE	679 (83,62%)	2 (7,14%)
NÃO REAGENTE	133 (16,37%)	26 (92,85%)
TOTAL (Amostras)	812 (100,00%)	28 (100,00%)

Entre as 812 amostras analisadas pelo método ELISA, utilizando antígeno de *Cysticercus longicollis*, do grupo de estudo, 133 (16,37%) não reagiram, caracterizando-se como falsos negativos (Tabela 8).

TABELA 8 – Número de animais reagentes e não reagentes, dos grupos de estudo e controle, no método ELISA, utilizando antígeno *Cysticercus longicollis*. Curitiba, Paraná, Brasil, 2001.

RESULTADOS	GRUPO DE ESTUDO	GRUPO CONTROLE	TOTAL
REAGENTES	679	2	681
NÃO REAGENTES	133	26	159
TOTAL	812	28	840

O coeficiente de sensibilidade para o método imunoenzimático (ELISA) foi de 83,62% e a especificidade de 92,85%, quando examinados a totalidade dos soros positivos parasitologicamente. Na tabela 9 poderão ser analisados os demais valores detectados por classificação dos cistos.

TABELA 9 – Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo, índice de Youden, concordância e discordância do método imunoenzimático aplicados à amostra de soro bovino de animais com cistos vivos, caseosos, calcificados e total, Curitiba, Paraná, Brasil, 2001.

INDICADORES	C. VIVOS	C.CASEOSOS	C.CALCIFICADOS	TOTAL
	ELISA CI (%)	ELISA CI (%)	ELISA CL (%)	ELISA CI (%)
SENSIBILIDADE	81,65	84,15	85,11	83,62
ESPECIFICIDADE	92,85	92,85	92,85	92,85
VALOR PREDITIVO(+)	99,12	99,35	98,62	99,70
VALOR PREDITIVO (-)	33,76	30,95	50,98	16,35
ÍNDICE DE YODEN	0,73	0,76	0,77	0,75
% DE CONCORDÂNCIA	81,65	84,15	85,11	83,62
% DE DISCORDÂNCIA	18,35	15,85	14,89	16,38

Para o método imunoenzimático a sensibilidade foi de 81,65% para cistos vivos, 84,15% para cistos caseosos e de 85,11% para cistos calcificados (ANEXO 6).

TABELA 10 – Número de animais reagentes e não reagentes, do grupo de estudo no método ELISA, utilizando antígeno *Cysticercus longicollis*, Curitiba, Paraná, Brasil, 2001.

RESULTADO	CISTOS VIVOS		CISTOS CASEOSOS		CISTOS CALCIFICADOS	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
REAGENTES	227	81,65	308	84,15	143	85,11
NÃO REAGENTES	51	18,34	58	15,84	25	14,88
TOTAL	278	100	366	100	168	100

Ao se proceder o método ELISA para o grupo testemunha obtivemos 7,5% de reagentes e 92,5% de não reagentes, num total de 80 soros negativos para cisticercose.

TABELA 11 – Número de animais reagentes e não reagentes, dos grupos de estudo e do grupo testemunha, no método ELISA, utilizando *Cysticercus longicollis*, Curitiba, Paraná Brasil, 2001.

RESULTADO	GRUPO DE ESTUDO		GRUPO TESTEMUNHA	
	Nº	%	Nº	%
REAGENTES	679	83,62	6	7,5
NÃO REAGENTES	133	16,37	74	92,5
TOTAL	812	100	80	100

4.2.2. APLICABILIDADE DO MÉTODO ELISA PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-*Cysticercus bovis* EM BOVINOS CONSIDERADOS PARASITOLÓGICAMENTE NEGATIVOS NA INSPEÇÃO PÓS-MORTE

Para testar a técnica de ELISA desenvolvida tendo como antígeno o extrato de *Cysticercus longicollis* e sendo anteriormente estabelecido o “cut-off” de absorvância de 0,295, foram colhidos em linha de abate do SIF 1710, 80 amostras de soro de bovinos, os quais em inspeção pós-morte foram considerados não portadores de cisticercose. Dentre os 80 soros examinados, 06 (7,5%) apresentaram valores de absorvância acima do “cut-off”, indicando presença de cisticercos (ANEXO 7).

4.3. RESULTADOS DA ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise de correlação dos dados obtidos entre o exame parasitológico e o de imunoenzimático (ELISA), usou-se o programa Estat (sistema para análises estatísticas versão 2.0) da UNESP-FCAN - Campus de Jaboticabal-SP, Polo Computacional, Departamento de Ciências Exatas.

4.3.1 ANÁLISE DO QUI-QUADRADO PARASITOLÓGICO

TABELA 12. Análise do Qui-Quadrado para os resultados da classificação parasitológica dos cisticercos vivos, caseosos e calcificados encontrados nos animais abatidos no SIF1710, no período de julho à dezembro de 2000.

Cisticercos	Vivos	Caseosos**	Calcificados
Positivos	293	394	210
Controle	299	299	299

**p<0,01

O resultado foi significativo a 1%. Portanto, pode-se afirmar que o cisticerco na forma caseosa é o predominante no presente estudo.

Analisando o resultado do exame parasitológico no qual foram considerados os cisticercos na forma viável (vivo) e inviável (soma dos caseosos com os calcificados) e após aplicado o teste do Qui-Quadrado, obtivemos os resultados descritos na tabela 13 .

TABELA 13. Teste Qui-Quadrado aplicado aos resultados obtidos, levando em consideração os cisticercos viáveis e inviáveis encontrados nos animais abatidos no SIF 1710, no período de julho à dezembro de 2000.

Cisticercos	Viáveis	Inviáveis**
Positivos (observados)	293	604
Controle (esperados)	448,5	448,5

** $p < 0,01$

O resultado é significativo a 1%. Portanto, pode-se afirmar que os cisticercos inviáveis são predominantes no exame parasitológico realizado no presente estudo.

4.3.2 ANÁLISE DE CORRELAÇÃO DOS RESULTADOS PARASITOLÓGICOS E DO MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA)

Procedendo-se uma análise estatística de correlação entre os resultados do exame parasitológico para cisticercose no exame pós-morte dos animais abatidos no período de julho à dezembro de 2000 no SIF 1710 e os resultados dos métodos (ELISA) do soro dos mesmos animais, obteve-se um coeficiente de correlação, $R=0,9978$, o que indica que os 2 exames (parasitológico e o método sorológico realizado através do método ELISA) apresentam correlação alta e positiva.

5. DISCUSSÃO

5.1. DISCUSSÃO DO ESTUDO PARASITOLÓGICO

A ocorrência do *Cysticercus bovis*, fase larval da *T. saginata* tem sido divulgada como muito difundida e extremamente comum no Paraná (SIPA-PR, 2000) e resultados do presente estudo comprovam esta afirmação. Evidências da infecção por cisticercos nos bovinos foi encontrada em todos os municípios que forneceram animais para o abate no SIF 1710, através dos achados de cisticercos no exame pós-morte.

No período de julho à dezembro de 2000, foram abatidos 26.633 bovinos no SIF 1710 e observou-se a ocorrência de 1020 casos positivos de cisticercose bovina, com uma prevalência média de 3,82%. Nesse período, houve variações das prevalências mensais, que foram de 2,81% (150 animais em julho de 2000) até 4,39% (177 animais em novembro de 2000) e podem ser melhor representados e observados na tabela 2.

No mesmo período pesquisado os dados nosográficos do SIPA-DFA-PR apontaram o registro de cisticercose bovina para o estado do Paraná conforme a tabela abaixo.

TABELA 14. Prevalência média da cisticercose bovina nos animais inspecionados pelo SIF-1710 no período de julho a dezembro de 2000 no estado do Paraná.

Período	Animais abatidos	N.º de casos cisticercose	Prevalência no Estado Pr (%)	Prevalência na atual pesquisa (%)
Julho/00	39.988	1.193	2,98	2,81
Agosto/00	36.361	1.305	3,58	3,95
Setembro/00	37.110	1.387	3,73	4,23
Outubro/00	43.685	1.569	3,59	4,15
Novembro/00	46.677	1.193	2,55	4,39
Dezembro/00	62.660	1.305	2,08	3,64
Total	266.481	7.952	2,96	3,82

Ocorreu o registro de 7.952 casos positivos de cisticercose bovina no estado do

Paraná, equivalente a 2,96% do total abatido pelo SIF no período de julho a dezembro de 2000, divergindo do resultado obtido na presente pesquisa que foi de 3,82%, portanto um diferencial de 0,86%. O diferencial apontado poderia ser justificado pela procedência diversificada dos animais, treinamento técnico e características diversas das equipes de inspeção, falta de padronização das técnicas de inspeção utilizadas pelas equipes de cada IF (estabelecimento registrado) e a pressão de trabalho, decorrente da velocidade de abate, pois quanto menor a velocidade, maior é a facilidade de execução da técnica de inspeção pós-morte e detecção dos cisticercos.

Nos estabelecimentos com Inspeção Estadual (SIP) e municipais (SIM) os procedimentos técnicos de inspeção são mais precários, o que nos leva a sugerir que a prevalência da cisticercose bovina no estado do Paraná poderia ser superior a encontrada.

No estado do Paraná não encontramos nenhum trabalho de pesquisa nos últimos cinco anos que demonstrasse a prevalência média da cisticercose. Porém, FERNANDES *et al.*, (2000) fazem um levantamento de dados do DIPOA-SIPA-SP e encontram as seguintes prevalências para os diferentes estados do Brasil: São Paulo com 4,60% (1.284.788 animais abatidos), Minas Gerais com 4,36%(35.768 animais abatidos), Mato Grosso do Sul com 3,56% (508.059 animais abatidos), Mato Grosso com 3,29% (10.779 animais abatidos), Rondônia com 2,68% (149 animais abatidos) e Goiás com 2,55% (125.314 animais abatidos).

RODRIGUES (1993) cita que o estado do Rio Grande do Sul no período de 1980 à 1990 registrou a prevalência média de 4,51% de cisticercose bovina, segundo dados do SIPA-DFA-RS.

No estado de São Paulo, a prevalência de cisticercose bovina, realizada a partir dos dados nosográficos obtidos no SIPA-SP foi descrito para os anos de 1980 (3,86%), 1981 (4,16%) e 1982 (4,18%), segundo KALIL (1984).

REIS *et al.* (1996), estudando a ocorrência de cisticercose bovina em animais abatidos em Uberlândia-MG, no período de 1979 à 1993, encontraram índices para o estado de Minas Gerais de 2,79% Goiás de 1,05% e Mato Grosso de 0,44%.

SOUZA *et al.* (1997) em levantamento realizado no estado de Minas Gerais, no período de 1990 a 1994, encontraram frequência de 4,15% de cisticercose bovina nos animais abatidos sob Inspeção Federal (SIF).

CARMO *et al.* (1997), estudando a prevalência de cisticercose no estado de Mato Grosso do Sul, mostraram uma prevalência de 1,04%. Porém, para as micro-regiões de Dourados, Iguatemi e Nova Andradina, os índices foram de 1,39%, 1,91% e 2,46%, respectivamente.

ZAMPINI (1994) encontrou uma taxa de prevalência de 2,79% de cisticercose bovina no estado do Paraná, no período de 1988, com 97.850 casos em 3.503.950 animais abatidos.

Os resultados dos diferentes trabalhos mostram a presença crescente, nas últimas décadas, da cisticercose bovina em todos os estados do circuito agropecuário. Centro-Oeste, Sudeste e Sul, onde se faz necessária urgentes medidas epidemiológicas, pois demonstra infecções alarmantes no bovino, por consequência, indica a presença de *T. saginata* parasitando o homem, os quais necessitam de cuidados primários de saúde pública. A maior taxa de prevalência da cisticercose bovina em São Paulo e Minas Gerais, coincide com uma maior concentração de criações de bovinos próximos aos grandes centros urbanos e com uso intensivo de mão-de-obra temporária proveniente do meio rural.

No presente trabalho procedendo-se uma análise dos resultados, por procedência dos animais abatidos, no período pesquisado, constatou-se que as regiões que apresentaram as maiores prevalências de cisticercose bovina foram a região metropolitana de Curitiba (RMC) com 4,6% (455 animais abatidos) e a do município de Ponta Grossa com 4,3% (740 animais abatidos). Estas altas taxas de prevalências podem ser atribuídas, em razão dessas duas regiões serem banhadas por diversos rios e terem enormes áreas de várzeas e receberem ao longo de seus percursos, esgotos urbanos, terem áreas densamente povoadas e também por serem passíveis de inundações constantes, com alagamento das áreas de pastagens ou do consumo direto pelos animais da água contaminada pelos ovos da *T. saginata*.

Em relação aos órgãos parasitados a prevalência das localizações anatômicas dos cisticercos foram da cabeça com 57,77%, o coração com 39,65%, o diafragma com 1,37%, a língua com 1,10% e o esôfago com 0,09%. Os músculos da cabeça e o do coração perfizeram um total de 97,42% dos cisticercos encontrados. Segundo FERNANDES (2001) em estudo e levantamento dos dados nosográficos da 9ª Região administrativa – Araçatuba – SP sobre a localização e prevalência da cisticercose bovina observada no período de janeiro de 1990 à junho de 2000 em animais abatidos em frigoríficos sob Inspeção Federal, encontrou-se um índice de 97,46% dos cistos localizados nos músculos mastigadores (masséteres e pterigóides) e do coração. Em estudo da prevalência de cisticercose bovina em animais abatidos no município de Tupã – SP, MANHOSO (1996) encontrou 96,86% no ano de 1992 e 97,56% no ano de 1993. Estes dados indicam que o maior fluxo sanguíneo nesses músculos sejam o responsável por esta predileção.

A distribuição anatômica dos cisticercos, conforme a sua classificação ficou assim distribuída: viáveis (359 cistos) com 33,02% e degenerados (728 cistos) com 66,97%.

Os cistos vivos tiveram predileção pela musculatura de cabeça com 288 cisticercos (81%) dos 359 cistos detectados durante o estudo realizado, vindo a seguir o coração com 61 cisticercos (17%).

Os cistos caseosos também tiveram predileção pela musculatura da cabeça com 234 cistos (50%) dos 473 observados. Vindo a seguir o coração com 227 cistos (48%).

Os cistos calcificados tiveram predileção pelo coração com 143 cistos (56%) dos 255 casos de cistos calcificados, vindo posteriormente a cabeça (42%) com 106 cisticercos.

De um total de 1020 casos positivos, 94% foram de animais monocisticercósicos e 6% de pluricisticercósicos. Essa detecção de cisticercos com localização solitária deve ser o principal objetivo dos Inspectores Veterinários dos produtos de origem animal, uma vez que a grande maioria (94%) revelou a presença de um só cisticerco por animal e por regiões anatômicas inspecionadas.

SANTOS *et al.*, (1993), de um total de 4366 casos positivos de cisticercose

detectados no exame de inspeção pós-morte realizado em bovinos abatidos e inspecionados no Frigorífico Anglo, Barretos-SP – SIF n.º76, no período de novembro de 1991 à março de 1992 registrou o achado de 96,70% (4.222 animais abatidos) animais monocisticercósicos e 3,30% (144 animais) de pluricisticercósicos. Na musculatura da cabeça e coração o autor detectou 91,66% de casos positivos monocisticercósicos, sendo na cabeça 1404 cisticercos (33,25%) e no coração 2.466 cisticercos (58,41%). Na mesma pesquisa foi detectado entre os bovinos inspecionados 765 animais com cistos viáveis (vivos), sendo 550 cisticercos viáveis (vivos) localizados na cabeça (71,89%) e 161 cisticercos viáveis (21,04%) no coração e 3457 cistos degenerados (caseosos e calcificados), sendo 854 cistos localizados na cabeça (24,70%) e 2.305 cistos (66,67%) no coração.

Segundo BORCHERT (1974) a localização anatômica dos cisticercos vivos é mais freqüente nos músculos mastigadores (masséteres e pterigóides) com 83% e dos cisticercos caseificados e calcificados na musculatura cardíaca e nas vísceras.

Conforme GUSSO *et al.*, (2000) a localização anatômica dos cistos detectados em uma infecção experimental de bovinos com ovos de *T. solium* foi de acordo com os 44 cistos recuperados (18 vivos–40,9%) e (26 calcificados–59,1%); na musculatura esquelética um total de 19 cistos (43,2%), sendo 2 cistos (10,5%) na cabeça, 7 cistos (36,8%) nos membros torácicos (dianteiros) 2 cistos (10,5%) no diafragma, 8 cistos (42,1%) nos membros pélvicos (traseiro); e 25 cistos (56,8%) nos órgãos: 20 cistos (80%) no fígado, 2 cistos (8%) no coração, 2 cistos (8%) na língua e 1 cisto (4%) nos rins.

MAEDA (1996), em um estudo sobre a distribuição dos cistos da *T. saginata* em grupos musculares de bovinos naturalmente infectados, na Tanzânia, encontrou 52,4% dos fígados com cisticercos, sendo 8% cisticercos vivos e 92% calcificados; 85,7% dos corações, sendo 17% de cisticercos vivos e 83% degenerados e 57,1% nos músculos da cabeça, sendo 50% com cistos vivos e 50% com cistos degenerados.

No presente estudo não foram identificados cisticercos no fígado dos animais inspecionados. Porém diversos nódulos parasitários demonstra que deve haver uma maior

pesquisa (incisões) para expor uma maior área de tecidos (parênquima hepático) para que a inspeção pós-morte possa ser mais minuciosa.

A distribuição dos cisticercos da *T. saginata* em diferentes tecidos de bovinos naturalmente infectados possivelmente depende da área geográfica, rebanho e idade dos animais, assim como as atividades dos grupos musculares (KEARNEY, 1970; PAWLOWSKI e SCHULTZ, 1972).

O número de cisticercos individuais (monocisticercósicos) no presente estudo foi predominante. O baixo número é uma característica normal de uma situação hiperendêmica (GEMMELL e JOHNSTONE, 1977). Para KYVSGARD *et al.* (1990), o grau de infecção não tem influência na relativa distribuição entre os grupos musculares.

Na elaboração de um manual de inspeção para o diagnóstico de rotina de cisticercose nos animais de uma determinada região geográfica é importante que os sítios de eleição (predileção) do cisticerco no bovino sejam determinados e analisados.

Nosso estudo confirmou que os sítios de predileção para cisticercose da *T. saginata* nos bovinos do estado do Paraná foram em ordem decrescente: os músculos da cabeça (masséteres e pterigóides), coração, diafragma, língua e esôfago, nos achados das linhas de inspeção de rotina.

No presente estudo obtivemos uma prevalência eqüitativa de cisticercos, de acordo com o sexo dos animais, sendo que nos machos foi encontrado o índice de 3,82% e nas fêmeas 3,90%, o que demonstra não haver predileção ou especificidade parasitária. DORNY (2000) em um estudo soroepidemiológico detectou que as fêmeas leiteiras com idade superior a 5 anos apresentaram um prevalência de 5,1% de cisticercose e com a idade entre 3 a 4 anos, 6,3%. Comparando-se com as vacas tipo corte da mesma faixa etária, encontrou respectivamente 4% e 3,9%; induzindo a interpretação de que o manejo e o contato mais permanente do homem com as vacas leiteiras do que com as de corte, resultam uma maior contaminação ambiental e em consequência uma alta prevalência da cisticercose. No mesmo estudo DORNY (2000) encontrou uma prevalência de 1,2% de cisticercose para os machos de

bovinos tipo corte na faixa etária compreendida entre 1 a 2 anos e de 5% para 3 a 4 anos. Em nosso estudo a distribuição de cisticercos de acordo com a faixa etária foi de 4,5% de prevalência para o grupo de 18 a 36 meses, 2,32% para o grupo de 36 a 48 meses e de 3,63 para o de 48 meses acima.

A incidência e intensidade das infecções e o subsequente desenvolvimento da imunidade é possível que afete a relação entre idade e prevalência. Em áreas onde a transmissão da *T. saginata* entre o homem e o bovino é freqüente, é mais provável que o bovino seja infectado ainda jovem e desenvolva imunidade contra reinfecções. Contrastando, em áreas onde a transmissão é mais ao acaso, o tempo de exposição pode ser mais importante.

Procedendo-se a técnica de desinvaginação e identificação parasitológica dos 359 cistos vivos, catalogamos como sendo *Cysticercus bovis*, pois apresentaram todas as características morfológicas destes.

GUSSO *et al.*, (1996) procederam uma infecção experimental em bovinos com ovos de *T. solium* e, os cisticercos resultantes desta infecção sofreram modificações em sua estrutura morfológica, apresentando acúleos rudimentares e sem a presença da coroa. PESSÔA (1982) descreveu que em processos de degeneração os ganchos podem ser encontrados no líquido vesicular e também cistos sem rostelo e sem coroa de ganchos. Entretanto, segundo SOULSBY (1968), BORCERT (1981), LAPAGE (1981) vários animais podem ser hospedeiros intermediários da *T. solium*, entre eles os bovinos. Os resultados de nosso estudo nos cistos provenientes de bovinos naturalmente infectados não detectou alterações morfológicas que pudessem identificá-los como sendo originados de ovos de *T. solium*.

5.2 DISCUSSÃO DO MÉTODO ELISA

Uma vez que a maioria das infecções em bovinos são monocisticercósicas, nos interessa ter outras provas diagnósticas alternativas. Neste trabalho testou-se o método ELISA

indireta em soro de bovinos com cisticercose confirmados parasitológicamente em inspeção pós-morte de carcaças. Trabalhou-se com antígeno extrato salino parcial de *Cysticercus longicollis*, um antígeno heterólogo produzido pelo CPPI (Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicas) da Secretaria de Estado da Saúde do Paraná, cujas características técnicas constam do ANEXO 3. Com este antígeno foi estabelecido os parâmetros gerais do método, determinou-se o “cut-off”, estudou-se o comportamento imunológico dos bovinos naturalmente infectados e testou-se amostras de soros de bovinos considerados negativos para cisticercose na inspeção pós-morte de rotina abatidos no SIF 1710.

Os resultados obtidos no método ELISA indireto, tomando como referência os soros dos animais positivos parasitologicamente na inspeção pós-morte e utilizando-se a técnica padronizada do ELISA conforme referenciada em material e métodos, apresentaram índices de 83,62% de sensibilidade, 92,85% de especificidade e concordância de 83,62%.

Obtivemos na totalidade, dos soros positivos parasitologicamente, um resultado de 83,62% de positivos e 16,37% de falsos-negativos.

Quando os soros foram testados de acordo com a classificação imunológica dos cistos detectados, encontrou-se uma sensibilidade de 81,65% para os cistos vivos, 84,15% para os caseosos e 85,11% para os calcificados, configurando-os verdadeiros positivos; e de não reagentes ou falsos-negativos respectivamente 18,34%, 15,84% e 14,88%. O método ELISA segundo BAILLY (1988) tem alta sensibilidade variando de 75% a 90%. Portanto, nossos resultados (81,65 a 85,11%) estão dentro do esperado. Os resultados obtidos pelo método de ELISA em nosso estudo foram quantitativos, pois existia a correlação entre os valores da absorbância (DO) e os aspectos clínicos parasitológicos comprovados com os cistos detectados na inspeção pós-morte.

A principal dificuldade, com relação a sorologia para cisticercose bovina, são os baixos níveis de anticorpos em animais com infecções leves (HAYUNG *et al.*, 1991, KYVSGAARD *et al.*, 1991). Estudos realizados por vários autores revelaram diferentes limiares de sensibilidade. Para HAYUNG *et al.*, (1991) reação falso-negativa foi verificada

em bovinos com 83 cisticercos vivos. Porém, posteriormente, o mesmo autor encontrou o liminar de positividade de 12 cisticercos.

O fato de se ter encontrado um liminar de positividade a partir de um cisticerco no presente estudo, deve-se, provavelmente pelo método ELISA, ter sido realizado em bovinos infectados naturalmente e nos quais a intensidade da resposta imune pode ser diferente das infecções experimentais, quando o animal recebe grande número de ovos em uma só ingestão e em um único período.

LUKES *et al.*, (1986) estudaram método sorológico para o diagnóstico do *C. bovis*. Exames de 269 necropsias de touros em uma determinada fazenda revelaram 65 (24,21%) animais portadores de cisticercose. Outros 134 amostras de soros oriundos de um lote de touros da mesma propriedade foram examinados através de ELISA. Onde detectou-se 15 soros positivos de um total de 24 animais constatados positivos na inspeção pós-morte. O antígeno empregado foi originário de *C. longicollis*, o qual mostrou 62,5% de sensibilidade e 46% de especificidade.

Estudo relativo à purificação antigênica predominantemente do interior do fluido vesicular de *T. crassiceps*, através da técnica de cromatografia de filtração molecular em Sephacryl S-300, revelou compartilhar identidade com a principal proteína vesicular do estado larval de *T. saginata*. A comparação do fluido vesicular deste último, traduz ao antígeno referido, melhor reagente para discriminar animais infectados e sadios (KALLINA *et al.*, 1990).

ABUJE *et al.*, (1996) utilizando Ag-Elisa com anticorpo monoclonal em um levantamento soroepidemiológico de *C. bovis*, divulgou que o Ag-Elisa foi, na prática, em média duas vezes mais sensível para detecção de animais positivos para cisticercose do que a inspeção de carnes. Os resultados das prevalências variaram de duas até treze vezes maiores para a Ag-Elisa do que para a inspeção de carne.

DORNY (2000) usando Ag-Elisa para determinar a prevalência de cisticercose bovina em gado de corte da Bélgica, usou a técnica de pré-aquecer a soro a 100°C durante 15 minutos para dissociar o complexo imunológico e aumentar a especificidade e sensibilidade do teste Elisa, com menores resultados falso-positivos.

Os resultados dos estudos de DORNY (2000) em uma pesquisa de soroprevalência de *C. bovis* em gado de corte na Bélgica confirmaram que apesar do tempo e esforço dispendidos

pelos inspetores de carne para pesquisar a cisticercose nos sítios de predileção, mostra que este método de inspeção é extremamente falho e que a prevalência da cisticercose bovina utilizando Elisa (Ag-Elisa) foi de dez vezes mais elevada que a inspeção clássica de carne.

Em nosso estudo o grupo testemunha composto de 80 bovinos liberados para o consumo na inspeção pós-morte e considerados parasitologicamente negativos para cisticercose bovina, apresentou no método ELISA uma positividade de 7,5%. Os seis animais com D.O. acima do cut-off colocaram em risco a saúde do consumidor.

Uma razão óbvia é que a cisticercose talvez possa passar despercebida facilmente porque os cisticercos talvez não sejam detectados nos cortes do coração e dos músculos masséteres. Como foi mostrado nos resultados do exame parasitológico (item 5.1) a maioria das carcaças positivas são monocisticercósicas.

Em vários estudos foi mostrado que através do fatiamento completo dos sítios de predileção a média de prevalência aumenta de cinco a cinquenta vezes mais que a inspeção de rotina (GEERTS *et al.*, 1980; VANKMAPEN, 1981; HÖRCHNER, 1983). Porém, esta metodologia leva a depreciação comercial dos cortes.

Durante a revisão bibliográfica realizada no presente estudo, verificamos que nos países do Hemisfério Norte (Europa e Estados Unidos da América) mais especificamente, as infecções de cisticercose são generalizadas (pluricisticercósicas) albergando de 30 a mais cisticercos, devido ao sistema e características de manejo do rebanho (confinamento), tipos de terreno e topografias e utilização do lodo de esgoto para fertilização das pastagens. No Brasil, as características de criação bovina são bem diversificadas, divergindo da Européia e Norte Americana, com sistema extensivo em grandes áreas de pastagem e menos contato com o homem e resíduos de poluição sanitária de esgotos. O que justifica as infecções no rebanho nacional caracterizarem - se como monocisticercósicas ou infecções leves.

O método Elisa fornece dados relevantes sobre o comportamento imunológico de bovinos portadores de cisticercose. Em função dos animais infectados desenvolverem anticorpos, mas, no curso da infecção, os níveis dos mesmos podem cair abaixo do “cut-off” (MINOZZO, 1997), demonstrando que o método não é totalmente adequado para o diagnóstico individual. Porém, além de fornecer dados sobre o comportamento imunológico dos bovinos frente a cisticercose, os resultados obtidos no presente trabalho, demonstrou a possível aplicação do teste de ELISA na epidemiologia da parasitose. Animais que vão para o abate, com sorologia positiva, poderiam sofrer inspeção diferenciada, com pesquisa de

cisticercose no DIF (Departamento de Inspeção Final) conforme o RIISPOA e, mesmo não sendo detectado nenhum cisto nos locais de pesquisa e de predileção, as carcaças deveriam ser enviadas para o tratamento pelo frio, conforme as instruções de Serviço do DIPOA-MAPA, pois de acordo com os resultados de nosso estudo, estas carcaças teriam 83% de preditividade positiva para albergarem cisticercos.

Teste sorológico de bovinos nascidos e criados na mesma propriedade e com sorologia positiva sugerem a presença de indivíduos portadores de teníose, entre aqueles que têm contato com os animais da propriedade. Assim, através da sorologia para cisticercose bovina, pode-se monitorar a prevalência da teniose humana. Repetidos exames do rebanho podem indicar o período de introdução da zoonose na propriedade. Na compra de animais para engorda e posterior abate, a sorologia poderia ser um alerta de possíveis perdas futuras.

A prevalência da doença na amostra populacional define a confiabilidade dos resultados. A determinação da sensibilidade e especificidade de um teste requer o conhecimento do diagnóstico verdadeiro (BUCK e GART, 1966).

O tratamento da cisticercose bovina com drogas antiparasitárias, como estratégia de controle e prevenção da infecção natural foi usado por BIONDI (1999) com o uso do sulfóxido de albendazole injetável (17% pv) em um rebanho de animais confinados, objetivando estudar a eficácia da droga. Os animais estudados foram divididos em dois grupos: grupo 1 (controle) com 200 animais não tratados e grupo 2 com 300 animais subdivididos em 3 lotes de 100 animais tratados com 3,4 mg/kg PV como segue:

Grupo 2 A – duas doses com intervalo de 30 dias;

Grupo 2 B – três doses com intervalo de 20 dias;

Grupo 2C – quatro doses com intervalo de 15 dias.

Como resultados, verificou-se que o grupo controle apresentou índice de condenação de 37,5%, enquanto que os grupos 2 A, 2 B e 2 C apresentaram índices de condenação 4,0 , 1,0 e 0,0%, respectivamente.

Porém, três hipóteses defendidas na imunopatologia da cisticercose quais sejam: persistência de anticorpos no soro após a destruição de cisticercos (ALUJA *et al*, 1996; EVANS *et al*, 1997; PALAPA *et al*, 1997); reinfecção em estágio inicial da doença (GONZALEZ *et al*, 1994; ALUJA *et al*, 1996); e, presença de formas pós-oncosferas em animais imunocompetentes (RODRIGUES *et al*, 1995) não credenciam o tratamento da cisticercose bovina com drogas como método eficaz para o controle efetivo desta zoonose.

Usando a droga praziquantel, HARRISON (1984), definiu a escolha desta como muito limitante, pois a transmissão da cisticercose cessa quando os cistos são mortos rapidamente, porém prosseguem com sua reabsorção na musculatura dentro de 6 a 9 meses pós-tratamento. No entanto, as lesões remanescentes de cistos calcificados perduram por até um ano.

A má qualidade de apresentação das carcaças com a presença dos cistos mortos repercute negativamente sob o ponto de vista tecnológico e industrial e mesmo sanitário, pois o inspetor veterinário não terá certeza diagnóstica se o animal apresenta cisto inviável porque recebeu tratamento ou se foi uma reação imunológica normal do hospedeiro. Como a carcaça poderá albergar outros cistos viáveis, do ponto de vista da técnica da inspeção a carcaça deverá receber uma destinação mais severa como por exemplo o tratamento pelo frio ou a conserva industrial.

Estudos que combinem diagnóstico ante-morte, tratamento da cisticercose bovina com drogas e identificação de cistos no exame pós-morte, poderão ser de grande valia para o controle preventivo da cisticercose a nível de rebanho para uma revisão dos destinos dados as carcaças pelos Serviços de Inspeção.

Pelas altas taxas de cisticercose bovina obtidas nesta pesquisa, bem como na revisão bibliográfica, o método ELISA constitui um valioso instrumento para diagnóstico, contribuindo para seu mapeamento e aprimorando os dados sanitários da procedência (rastreadibilidade) dos animais destinados ao abate e, conseqüentemente ao consumo humano. Os resultados do método imunoenzimático orientarão a equipe de inspeção para o rigor a ser dispensado nos exames ante e pós-morte, geralmente empregados na rotina de inspeção.

A Federação Veterinária Européia vem estimulando a integração entre os Setores de Inspeção nos matadouros-frigoríficos e os de defesa animal no campo pecuário, com subsídios do diagnóstico laboratorial como alternativa de modernização e aprimoramento do sistema de controle das doenças animais, sobretudo as de interesse da Saúde Pública (DIAS, 1995).

Dada a alta prevalência da cisticercose bovina em situações de abates clandestinos, o método Elisa se apresenta como instrumento indispensável em campanhas de controle e erradicação da doença, evitando também a exportação de carnes com cisticercos viáveis para os nossos parceiros comerciais, pondo em risco toda a política do Setor Produtivo da Pecuária Nacional na consolidação do Brasil como o maior exportador de carne do mundo.

5.3 DISCUSSÃO ECONÔMICA

A atividade da bovinocultura de corte no Brasil movimentava altas cifras econômicas pois possuíamos um rebanho de aproximadamente 160 milhões de cabeças de bovinos.

Considerando-se a prevalência média brasileira da cisticercose em 5% (SANTOS, 1993), teríamos 8 milhões de cabeças positivas para esta doença endêmica e que estariam inviabilizadas para a exportação, pois o RIISPOA e os Regulamentos técnicos da UE e EUA impedem a exportação de animais portadores de doenças e aqueles destinados ao DIF (Departamento de Inspeção Final) para uma rigorosa Inspeção Final.

Os prejuízos econômicos são distribuídos ao longo da cadeia produtiva da carne. Porém, o segmento intermediário dos matadouros frigoríficos é o que detém a maior parcela, devido as negociações econômicas impostas pelo mercado, principalmente dos produtores de bovinos que tradicionalmente não admitem descontos pecuniários pela positividade de seus animais (carcaças) para a cisticercose, a não ser em casos de condenações totais das carcaças (cisticercose generalizada) acompanhadas de declarações técnicas dos destinatários do Sistema Oficial de Inspeção.

Os prejuízos dos produtores rurais seriam principalmente devido a condenação total das carcaças diagnosticadas pela Inspeção; ao deságio no preço do boi, quando a venda é baseada no preço morto e estes animais são destinados à exportação e pela recusa dos frigoríficos em comprar animais de propriedades altamente infectadas.

Aos matadouros frigoríficos caberiam os prejuízos: causados pelo seqüestro de carcaças positivas para cisticercose e seu posterior destino condicional ao tratamento térmico por calor, frio e a salga; ao aumento dos custos com mão de obra dos manipuladores e eletricidade. O retorno econômico da carcaça é adiado pelas técnicas condicionais; pela condenação total das vísceras; desvalorização da carcaça recortada na pesquisa dos cisticercos. Haveria ainda o grande risco do consumidor detectar cistos viáveis em cortes de carne resfriadas comercializadas em embalagens à vácuo com a identificação do produtor (frigorífico) e o mesmo vir a sofrer demandas judiciais de indenizações por parte dos órgãos de defesa dos consumidores e ONGs.

Segundo SCHANTZ *et al* (1994), a perda econômica anual na América Latina é de aproximadamente US\$ 164 milhões. Na África as perdas por cisticercose bovina estão estimadas em US\$ 1.000 e 2.000(milhões), onde a impossibilidade prática de manter o gado

livre da infecção continua frustrando o crescimento de uma indústria de carne rentável em muitos países em desenvolvimento. Esta perda pode ser de U\$ 25 por animal infectado (ACHA e SZYFRES, 1986).

6. CONCLUSÃO

6.1 CONCLUSÃO DO ESTUDO PARASITOLÓGICO

- 1- Na pesquisa parasitológica do presente estudo detectou-se uma prevalência média de 3,82% para cisticercose bovina em 141 municípios paranaenses.
- 2- A distribuição anatômica dos cisticercos foi: músculos da cabeça 57,77% e coração 39,65%, perfazendo um total de 97,42% nos dois sítios de eleição.
- 3- A prevalência dos cistos conforme a sua classificação foi de 66,97% inviáveis e de 33,02% viáveis nos sítios de eleição.
- 4- Os cistos viáveis tiveram predileção pelos músculos da cabeça (81%) seguido pelos músculos do coração (17%).
- 5- Os cistos inviáveis tiveram predileção pelos músculos do coração (52,11%) seguido pelos músculos da cabeça (47,88%).
- 6- De um total de 1.020 animais positivos parasitologicamente para cisticercose, 94% foram de animais monocisticercósicos e 6% de pluricisticercósicos nos exames de inspeção pós-morte de rotina.
- 7- No presente estudo não foram detectados *C. cellulosae* parasitando a musculatura bovina; todos os cistos viáveis apresentaram as características morfológicas do *C. bovis*.
- 8- A inspeção da carne (musculatura estriada), mesmo realizada com cuidados extremos não garante que a carne esteja livre de cistos, sobretudo quando a infecção é discreta.
- 9- O município de Antônio Olinto registrou índice de 27,27%, a maior prevalência de cisticercose no presente estudo.

6.2 CONCLUSÃO DO MÉTODO ELISA

De conformidade com os resultados das análises das 812 amostras dos soros de animais parasitologicamente positivos para cisticercose e submetidos ao método IgG Elisa, concluiu-se:

a) o método imunoenzimático ficou assim padronizado:

Concentração de antígeno – 10 µg/ml

Titulação do soro – 1: 200

Diluição do conjugado – 1: 5500

Cut-off – 0,295

b) o coeficiente de sensibilidade para a prova de ELISA foi de 83,62% e a especificidade de 92,85%.

c) que não houveram diferenças estatísticas significantes dos animais com cistos viáveis e inviáveis.

d) Obteve-se um coeficiente de correlação entre os resultados positivos do exame parasitológico para cisticercose no exame pós-morte e os resultados do Teste de IgG-Elisa do soro dos mesmos animais, de $R = 0,9978$ o que indica que os dois exames são extremamente correlatados (correlação positiva).

e) Que o lote testemunha composto de 80 animais após ser submetido ao Teste IgG- Elisa apresentou 7,5% (seis animais) de positivos para cisticercose e que os mesmos animais foram liberados pela técnica de inspeção pós-morte, colocando em risco a saúde do consumidor.

RECOMENDAÇÕES

1. O método sorológico IgG-Elisa, usando-se o antígeno heterólogo *C. longicollis*, deve ser instituído como rotina para triagem dos animais, notadamente em regiões de alta prevalência de cisticercose bovina, possibilitando examinar um grande número de amostras, em curto tempo, tornando-se adequada para estudos epidemiológicos e que os resultados sejam registrados nas guias de trânsito animal que acompanham os lotes destinados ao abate e sirvam como subsídios para uma maior acurácia da inspeção ante e pós-morte.

2. Que os animais detectados positivos para cisticercose no método ELISA não sejam destinados à exportação e as carcaças sejam submetidas ao tratamento térmico.
3. Que os animais positivos para cisticercose sejam destinados ao abate somente em estabelecimentos com registro na Inspeção Federal, pois as diferenças na Inspeção realizada em matadouros com SIP ou SIM derivam dos padrões de exigências regulamentares e operacionais distintos e ainda das capacidades das instalações físicas, técnico-financeiras e humanas de cada unidade, colocando muitas vezes em risco a saúde do consumidor.
4. Que seja criado um sistema informatizado, em rede, para registro dos dados nosográficos computados nos serviços Municipal, Estadual e Federal para termos a real prevalência das zoonoses na estado do Paraná.
5. Com os resultados obtidos neste estudo, aliados às informações disponíveis na literatura, recomenda-se que deve ser implantado, inicialmente no Estado do Paraná e posteriormente em território nacional, um programa de erradicação da teniose-cisticercose, pois com a implantação do Sistema Brasileiro de Identificação de Origem Bovina e Bubalina visando aumentar a exportação da carne e, instituindo-se o programa de certificação e rastreabilidade, não será tecnicamente viável e nem eticamente aceitável, pela comunidade científica nacional e internacional, certificar que os cortes cárneos estejam isentos do perigo biológico da cisticercose, utilizando-se somente a técnica de inspeção pós-morte tradicional.

GLOSSÁRIO

Antígeno - componente do agente agressor que provoca no organismo agredido uma reação, por parte do sistema imunológico, produzindo anticorpos contra o corpo estranho. O antígeno pode ser vírus, bactéria ou parasito. No presente caso, é o *Cysticercus longicollis*.

Bloqueador - solução química que bloqueia a reação. Possui pH ácido ou alcalino forte dependendo do substrato utilizado.

Conjugado anti IgG bovino marcado com peroxidase - é um reagente específico e imprescindível para a técnica de ELISA. Na reação o anticorpo que se liga ao antígeno, será adsorvido por esse conjugado para depois ser marcado pelo substrato.

Efetividade - é o grau em que uma determinada intervenção, procedimento, regime ou serviço produz um resultado benéfico, quando empregado no “mundo real”, em uma população definida. É o resultado verdadeiramente observado nas condições habituais de uso. É uma abordagem usada na verificação da qualidade em condições usuais.

Eficácia - é o grau em que uma determinada intervenção, procedimento, regime ou serviço produz um resultado benéfico, em condições “ideais” de observação; trata-se do resultado no laboratório. Indica a utilidade ou o benefício de um teste em condições ideais.

Eficiência - refere-se aos efeitos alcançados em relação ao esforço despendido, em termos de recursos e tempo utilizados. É o resultado obtido, tendo em conta os insumos empregados. É o rendimento dos recursos.

Espectrofotômetro - aparelho elétrico que lê as densidades ópticas da microplaca.

Incubador de placa - estufa elétrica que serve para incubar a microplaca na temperatura exigida pela técnica de ELISA.

Lavador de placa - aparelho elétrico munido de 8 a 12 orifícios onde há a passagem de tampão para proceder a lavagem da microplaca para retirar o excesso de anticorpo ou conjugado, dependendo da fase da reação. O lavador pode ser manual, semi-automático ou automático.

Microplaca - material plástico, transparente composto por 96 orifícios com capacidade de até 400µl cada orifício que serve para proceder a reação de ELISA.

Substrato OPD - o-Phenyldiamine . 2HCl. Reagente químico que, ao final da técnica, dá a reação de cor ao método ELISA. A cor produzida é proporcional à quantidade de anticorpo presente. Reagente sensível à luz, devendo ser guardado em frasco âmbar e ao abrigo da luz.

Coefficiente de variação - O coeficiente de variação, por expressar o desvio-padrão dividido pela média, tem a vantagem de facilitar comparações. O resultado não tem unidades, sendo expresso em porcentagens. A interpretação é semelhante à do desvio-padrão. Quanto menor o coeficiente de variação, melhor o nível de reprodutibilidade. Testes com menor coeficiente de variação tendem a produzir resultados mais consistentes.

Desvio-padrão - Em medidas quantitativas, quando são feitas repetidas mensurações de um mesmo evento, o desvio-padrão informa sobre o nível de reprodutibilidade. Quanto menor o desvio-padrão, mais próximos estão os resultados um do outro, o que significa melhor reprodutibilidade.

Incidência e prevalência - A incidência de uma doença se refere aos casos novos e a prevalência aos casos existentes. A primeira é dinâmica e a segunda é estática. Para conhecer a incidência, especifica-se a duração do tempo de observação de surgimento de casos novos. A prevalência de um evento informa o número de casos existentes. Nos seus resultados estão misturados casos novos e casos antigos.

$$\text{Taxa de Incidência} = \frac{\text{Número de casos novos, em determinado período}}{\text{Número de pessoas expostas ao risco, no mesmo período}} \times \text{Constante}$$

$$\text{Taxa de Prevalência} = \frac{\text{Número de casos existentes}}{\text{Número de pessoas na população}} \times \text{Constante}$$

Reprodutibilidade - (confiabilidade, fidedignidade, repetibilidade ou precisão), de um teste diagnóstico é a consistência ou concordância de resultados quando a medição ou exame se repete em condições idênticas.

Validade - (acuidade, acurácia ou exatidão). Refere-se ao grau em que o exame é apropriado para medir o verdadeiro valor daquilo que é medido, observado ou interpretado. A validade informa se os resultados representam a “verdade” ou quanto se afastam dela. Em um teste diagnóstico, a questão a ser investigada é a sua capacidade de discriminar corretamente doentes e sadios.

Validade em relação a um padrão - Refere-se a quanto, em termos quantitativos, um teste é útil para diagnosticar um evento (validade simultânea ou concorrente) ou para predizê-lo (validade preditiva). Para tal, comparam-se os resultados do teste com os de um padrão: esse pode ser o verdadeiro estado do paciente, se tal informação está disponível, um conjunto de exames julgados mais adequados ou uma outra forma de diagnóstico que sirva como referencial.

Modelo para avaliação de um teste diagnóstico:

Matriz para os cálculos, segundo PEREIRA (1995, p.369).

TESTE	DOENTES	SADIOS	TOTAL
Positivo	Verdadeiro Positivo (a)	Falso-Positivo (b)	a + b
Negativo	Falso-Negativo (c)	Verdadeiro Negativo(d)	c + d
TOTAL	a + c	b + d	N

N = número total de examinados = $a + b + c + d$

Sensibilidade = $a / a + c$

Especificidade = $d / b + d$

Prevalência (real) = $a + c / N$

Prevalência estimada (teste) = $a + b / N$

Valor preditivo positivo = $a / a + b$

Valor preditivo negativo = $d / c + d$

Classificação correta = $a + d / N$

Classificação incorreta = $b + c / N$

Índice de Youden = $(a / a + c) + (d / b + d) - 1$

Nota: Indicadores expressos em porcentagem.

Sensibilidade - capacidade que o teste apresenta de detectar os indivíduos verdadeiramente positivos, ou seja, diagnosticar corretamente os doentes.

$\text{Sensibilidade (\%)} = \frac{\text{Verdadeiros positivos}}{\text{Verdadeiros positivos} + \text{Falsos negativos}} \times 100$
--

Especificidade - capacidade que o teste tem de detectar os verdadeiros negativos, isto é, de diagnosticar corretamente os indivíduos sadios.

$$\text{Especificidade (\%)} = \frac{\text{Verdadeiros negativos}}{\text{Falsos positivos} + \text{Verdadeiros negativos}} \times 100$$

Valor preditivo positivo - é a proporção de doentes entre os considerados positivos ao teste.

$$\text{Valor preditivo positivo(\%)} = \frac{\text{Verdadeiros positivos}}{\text{Verdadeiros positivos} + \text{Falsos positivos}} \times 100$$

Valor preditivo negativo - é a proporção de sadios entre os negativos ao teste.

$$\text{Valor preditivo negativo(\%)} = \frac{\text{Verdadeiros negativos}}{\text{Falso negativos} + \text{Verdadeiros negativos}} \times 100$$

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUJE, J. A. O. *et al.* Seroepidemiological survey of *Taenia saginata* cysticercosis in Kenya, *Vet. Parasitol.*, v. 64, n.3, p. 177-185, 1996.
- ACEVEDO-HERNÁNDEZ, A. **Economic impact of porcine cysticercosis.** In: FLISSER, A. *et al.*, (Ed.) *Cysticercosis: present stat of knowledge and perspectives.* New York; Academic Press, 1982, p. 63-67.
- ACHA, P.; SZIFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales.** 2. Ed. Washington: OPS/OMS, 1986.
- ALBUQUERQUE, E. S.; GALHARDO, I.. Neurocysticercose no Estado do Rio Grande do Norte – relato de oito casos. *Arq. Neuropsiquiatria.* v. 53, n. 3-A, p. 464-470, 1995.
- ALUJA, A. S. Frequency of porcine cysticercosis in Mexico. In: FLISSER, A. *et al.*, (Ed.) *Cysticercosis: present state of Knowledge and perspectives.* New York: Academic Press, 1982. p. 53-62.
- ALUJA, A. S.; *et al.* Experimental *Taenia solium* cysticercosis in pigs: characteristics of the infection and antibody response. *Vet. Parasitol.* 61: 49-59, 1996.
- ARRUDA, W. O.; CAMARGO, N. J.; COELHO, R. C. Neurocysticercosis – an epidemiological survey in two small communities. *Arq. Neuropsiquiatria.* v. 8, n. 4, p. 419-424, dez. 1990.
- AUBRY, P.; BEQUET, D.; QUEGUINER, P. La cysticercosis: une maladie parasitaire fréquente et redoutable. *Med. Trop.* v. 55, n. 1, p. 79-87, 1995.
- BAILY, G.G.; *et al.* Serological diagnosis of neurocysticercosis: evaluation of ELISA tests using fluid and other components of *Taenia solium* cysticerci as antigens. *Trans. R. SOC. TROP. MED. HYG.*, 82: 295-299, 1988.
- BARTELS, H. **Inspección veterinaria de la carne.** Zaragoza : Acribia, 1971.
- BECKER, H. **Métodos de pesquisas em ciências sociais.** São Paulo : HUCITEC, 1993.
- BELOTTO, A. J. Factores culturales, sociales y economicos determinantes de la teníasis/cisticercosis en el Altiplano Boliviano. In: ENCONTRO DO CONE SUL E SEMINÁRIO LATINO-AMERICANO SOBRE TENÍASE E CISTICERCOSE (1994: Curitiba). *Anais...* Curitiba: Secretaria da Saúde do Paraná, 1994. P. 66-75.
- BENENSON, A. S. (Ed.) **El control de las enfermedades transmisibles en el hombre.** 15. Ed. Washington: OPS/OMS, 1992.
- BHOOPAT, M. D.; *et al.* CT diagnosis of cerebral cysticercosis. *J. Med. Assoc. Thai.* v. 72, n. 12, p. 673-681, Dec. 1989.

BIONDI, G. F.; HENRIQUE, C. H.; OLIVEIRA, A.C. Alto índice de cisticercose bovina em sistema de confinamento: estratégia de controle através da utilização do sulfóxido de albendazole E a 17%. *Rev. Higiene Alimentar*, v. 13, n.61, p.59-60,1999.

BIONDI, G.F. **Emprego do teste imunoenzimático ELISA indireto no soro diagnóstico da cisticercose suína.** São Paulo, 1996. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

BORCHERT, A . **Parasitologia veterinária.** Acribia, Zaragoza, 3ª ed. España, p.162-200, 1981.

BOUILLIANT-LINET, E. ; *et al.*, Cysticercose cérébrale- intérêt diagnostique de la scanographie. A propos de 117 observations. *J. Radiol.* v. 69, n. 6-7, p.405-412, juin./juil. 1988.

BRASIL, Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº 304, de 22 de abril de 1996. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil.** N.78, p. 685, seção 1, 23 abr. 1996.

BRITO, D. B. (Coord.) Aspectos clínicos, laboratoriais, epidemiológicos e de controle das teníases/cisticercoses. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOONOSES (1987: Rio de Janeiro). **Anais...** Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, Associação Brasileira de Especialistas em Zoonoses, 1987. P. .56-60.

BRUTTO, O. del; SOTELO, J. Neurocysticercosis. *Med. Hoy*, v. 6, n. 2, p. 21-40, 1987.

BRUTTO, O . H. del; SOTELO, J. Neurocysticercosis: na update. *Rev. Infect. Dis.* v. 10, n. 6, p. 1075-1087, Nov./Dec. 1988.

BRUTTO, O. H. del; *et al.*, Sex-related severity of inflammation in parenchymal brain cysticercosis. *Arch. Intern. Med.* v. 148, p. 544-546, Mar. 1988.

BRUTTO, O. H. del. Cysticercosis and cerebrovascular disease: a review. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* v. 55, p. 252-254, 1992.

BRUTTO, O. H. del; SOTELO, Julio Etiopatogenia de la neurocysticercosis. *Rev. Ecuat. Neurol.* v. 2, p. 22-32, 1993.

BUCK, A .A . & GART, J.J. Comparison of a screening test and a reference test in epidemiologic studies. I. Indices of agreement and their relation to prevalence. *American Journal of Epidemiology*, v. 81, n. 3, p. 586-592, 1966.

BUENO, E.C. **Neurocisticercose: avaliação da resposta imune humoral nas diferentes fases evolutivas da doença pelo ELISA e imunoblot com antígenos de *Taenia solium* e *T. crassiceps*.** São Paulo, 1999. Tese (Mestrado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

- CAMPOS, R. Teníases. In: VERONESI, Ricardo. **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8.ed.. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.
- CARBAJAL, J.R. ; *et al.*, Radiology of cysticercosis of the central nervous system including computed tomography. **Radiology**. v. 125, p. 127-131, Oct. 1977.
- CARBAJAL, J.R. ; *et al.*, La cisticercosis humana en México. **Gac. Med. Mex.** v. 124, n. 5-6, p. 191-208, mayo/jun. 1988.
- CARMO, R.G. *et al.* Prevalência de cisticercose bovina no estado de Mato Grosso do Sul. **Rev. Higiene Alimentar**. v.11, n.50, p.45-50, 1997.
- CARRADA-BRAVO, T. Teniasis-cisticercosis como problema de salud pública. **Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.** v. 44, n. 7, p. 427-434, jul. 1987.
- CHEQUER, R. S.; VIEIRA, V. L. F. Neurocisticercose no Estado do Espírito Santo. **Arq. Neuropsiquiatria**. v. 48, n. 4, p. 431-440, 1990.
- CLEMENTE, H. A. M.; WERNNECK, A. L. S. Neurocisticercose – incidência no Estado do Rio de Janeiro. **Arq. Neuropsiquiatria**. v. 48, n. 2, p. 207-209, 1990.
- COOK, M. A.; *et al.*, Neurocysticercosis : an old disease with new questions. **J. Fam. Pract.** v. 39, n. 6, p. 583-587, Dec. 1994.
- COSTA-CRUZ, J. M.; *et al.*, Ocorrência de cisticercose em necropsias realizadas em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. **Arq. Neuropsiquiatria**. v. 53, n. 2, p. 227-232, 1995.
- COULDWELL, W. T.; APUZZO, M. L. J. Cysticercosis cerebri. **Neurosurg. Clin. North Am.** v. 3, n. 2, p. 471-481, Apr. 1992.
- CRUZ, M. E.; *et al.*, Headache and cysticercosis in Ecuador, South America. **Headache**. v. 35, n. 2, p. 93-97, Feb. 1995.
- DEAN, J.; DEAN, A. ; BURTON, A. ; DICKER, R. **Public domain software for epidemiology and disease surveillance**. Version 6.04b. Atlanta, January, 1997.
- DEODARI, A. K.; KARLA, V. Neurocysticercosis. **Indian J. Pediatr.** v. 54, n. 6, p. 815-818, Nov./Dec. 1987.
- DIAS, R. M. D. S.; *et al.*, Ocorrência de *Taenia sp* na população atendida no Laboratório Central do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil. (1960/1989). **Rev. Inst. Med. trop. São Paulo**. v. 33, n. 2, p. 147-151, mar./abr. 1991.
- DIAS, M.A. Eficácia da inspeção sanitária nos matadouros. **Vet. Téc.** 5(3): 20-4, 1995.
- DORNY, P. *et al.* Sero-epidemiological study of *Taenia saginata* cysticercosis in Belgian cattle. **Vet. Parasitol.** v.88, p.43-49, 2000.

DUARTE, N.S.; CORRÊA, N. Cisticercose bovina. In: BECK, A .H.; *et al.* **Manual da parasitose dos animais**. Florianópolis: SEAB, 1985.

EGAS, F.A ; *et al.*, Neurocysticercosis: revisión de 65 pacientes. **Arch. Neurobiol.** v. 51, n. 5, 1988, p. 252-268.

EARNEST, M. P. ; *et al.*, Neurocysticercosis in the United States : 35 cases and a review. **Rev. Infect. Dis.** v. 9, n. 5, p. 961-979, Set./Oct. 1987.

ESTAÑOL, B.; CORONA-VASQUEZ, T.; ABAD-HERRERA, P. Clasificación pronóstica de la cisticercosis cerebral. Implicaciones terapéuticas. **Gac. Med. Mex.** v. 125, n. 3-4, p. 105-11, Mar./Abr. 1989.

ESTERRE, P.; ANDIANTSIMAHAVANDY, A.; BOISIER, P. Relations entre pathologie et immunité dans la cysticercose. **Arch. Inst. Pasteur Madagascar.** v. 61, n. 1, p. 14-20, 1994.

EVANS, C. A . W. *et al.* Immunotherapy for porcine cysticercosis: implications for prevention of human disease. **Am.Soc. Trop. Med. Hyg.**, 56(1): 33-7, 1997.

FAY, L. D. Exposure of Thomson's gazelle to experimental infection with *Cysticercus bovis*. **Vet. Record**, v.90, p.34-35, 1972.

FELDMAN, M.; *et al.*, Comparison of two assays (EIA and EITB) and two samples (saliva and serum) for the diagnosis of neurocysticercosis. **Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 84, p. 559-562, 1990.

FERRANTE, A. ; *et al.*, Cysticercosis cerebri. Report on seven cases. **Acta Neurochirurgica.** v. 76, p. 28-35, 1985.

FLISSER, A. Relación huésped-parásito en la cisticercosis humana y porcina. **Gac. Med. Mex.** v. 123, n. 7-8, p. 157-164, jul./ ago. 1987.

FLISSER, A. Teniasis-cysticercosis : an introduction. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.** v. 22 (supl.), p. 233-235, dec. 1991.

FLISSER, A.; PLANOARTE, A. Diagnostico, tratamiento y mecanismos de evasión inmune de la cisticercosis por larvas de *Taenia solium* en seres humanos y cerdos. **Rev. Asoc. Guatemalteca Parasitol. Med. Trop.** v. 6, n. 1, p. 43-54, abr. 1991.

FLISSER, A .; MADRAZZO, I.; DELGADO,H.; **Cisticercosis humana**. México, manual moderno, 1997,176p.

FRANÇA, A. S.; LIVRAMENTO, J. A.; MACHADO. L. R. Cysticercosis of the central nervous system and cerebral fluid. **Arq. Neuropsiquiatria** v. 51, n. 1, p. 16-20, mar. 1993.

GALHARDO, I.; *et al.*, A neurocisticercose no Rio Grande do Norte antes e depois da tomografia computadorizada. *Arq. Neuropsiquiatria*. v. 51, n. 4, p. 541-545, 1993.

GANG-ZHI, W.; CUN-JIANG, L.; JIA-MEI, M.; MING-CHEN, D. Cysticercosis of the central nervous system – a clinical study of 1.400 cases. *Chin. Med. J.* v. 101, n. 7, p. 494-500, 1988.

GARCIA-ALBEA, E. Cisticercosis en España. Algunos datos epidemiológicos. *Rev. Clin. Esp.* v. 184, n. 1, p. 3-6, 1989.

GARCIA, H. H.; *et al.*, Factors associates with *Taenia solium* cysticercosis : analysis of nine hundred forty-six peruvian neurologic patients. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* v. 52, n. 2, p. 145-148, Feb. 1995.

GARCIA, E.; SOTELO, J. Storage of cerebrospinal fluid on paper. *The Lancet*. v. 2, n. 8670, p. 1046, Oct. 1989.

GEERTS, S. *Taenia saginata*: een eeuwig probleem? *Verh. K. Acad. Geneeskd. Belg.* 52, 537-564, 1990.

GEERTS, S.; KUMAR, V.; VAN DEN, A. *Taenia saginata* cysticercosis in slaughter cattle in Belgium. v.1. *Diergeneesk. Tijdschr.* 49, 365-374, 1980.

GEMMELL, M.A.; LAWSON, J. R. Ovine cysticercosis : an epidemiological model for the cysticercosis. I. Free-living egg fase. In : FLISSER, A.; *et al.*, *Cysticercosis : present state of knowledge and perspectives*. New York : Academic Press, 1982, p. 87-98.

GEMMELL, M.; *et al.*, (Ed.). *Guidelines for surveillance prevention and control of taeniasis/ cysticercosis*. Geneva : World Health Organization, 1983.

GEMMELL, M. A. A critical to the concepts of control and eradication of echinococcosis/hydatodosis and teniasis/cysticercosis. *Intern. J. Parasitol.* v. 17, n. 2, p. 465-472, Feb. 1987.

GOBBI, H. *et al.*, Ocorrência de cisticercose (*Cysticercus cellulosae*) em pacientes necropsiados em Uberaba, MG. *Rev. Pat. Trop.* v. 9, n. 1-2, p. 51-59, jan./jun. 1980.

GONÇALVES-COELHO, T. D.; COELHO M. D. G. Cerebral cysticercosis in Campina Grande, Paraíba – nothern Brazil. Computed tomography diagnosis importance. *Arq. Neuropsiquiatria*. v. 54, n. 1, p. 94-97, Mar. 1996.

GONZALEZ, A .E. *et al.* Use of sentinel pigs to monitor environmental *Taenia solium* contamination. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 51(6): 847-50, 1994.

GUERRA, F.; *et al.*, Algunas características epidemiológicas de la hadatidosis y de la cisticercosis en cadáveres de personas autopsiadas en la Región Metropolitana, Chile, 1980-1984. *Bol. Chil. Parasitol.* v. 40, n. 1-2, p. 38-41, abr./jun. 1985.

GUTIERREZ, E. J. S.; OSPINA, I.G. La teniasis y cisticercosis en México (revisión bibliográfica). **Salud Publica Mex.** v. 28, n. 5, p. 556-563, set./oct. 1986.

GUTIERREZ, E. J.S ; *et al.*, *Taenia solium* teniasis and cysticercosis in a Mexican village. **Trop. Med. Parasit.** v. 39, p. 194-198, 1988.

GUTIERREZ, E. J.S. ;*et al.*, Prevalencia and risk factors for *Taenia solium* taeniasis and cysticercosis in humans and pigs in a village in Morelos, Mexico. **Am. J. Trop Med Hyg.** v. 46, n. 6, p. 677-685, Jun. 1992.

GUTIERREZ, E. J.S. ; *et al.*, Epidemiological investigation of *Taenia solium* teniasis and cysticercosis in a rural village of Michoacan State, Mexico. **Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 88, n. 1, p. 49-52, Jan./Feb. 1994.

GUSSO, R.L.F. Teniase e cisticercose. **Rev. Bras. de Parasitologia veterinária.** v.6, n.2, p.457-463, 1997.

GUSSO, R.L.F. Estudo comparativo dos antígenos de *Cysticercus longicollis* e *C. cellulosae* no imunodiagnóstico da neurocisticercose humana. Curitiba, 2000. 96p. Tese de mestrado, Curso de medicina veterinária, Universidade Federal do Paraná.

GUSSO, R.L.F.; MINOZZO, J.C.; THOMAZ-SOCCOL, V.; CAMARGO, N.J.; LOPES, C. M. Experimental infection of cattle with eggs of *Taenia solium*. **Archives of Veterinary Science.** v.5, p. 23-27. 2000.

HAGUETTE, T. M. F. **Metodologias qualitativas na sociologia.** 4. Ed. Petrópolis : Vozes, 1995.

HAYUNGA, E.G.; SUMMER, M.P.; RHOADS, M.L.; *et al.* Development of a serologic assay for cysticercosis, using an antigen isolated from *Taenia* spp cyst fluid. **American Journal of Veter. Research**, Schaumburg, v. 52, n.3, p. 462-470, 1991.

HARRISON, L.J.S.; GALLIE, G.J.; SEWELL, M.M.H., Absorption of cisticerci in cattle after treatment of *Taenia saginata* cysticercosis with praziquantel. **Ver. Vet. Sci.**, 37: 378-380, 1984.

HELMAN, C. **Culture, health and illness.** London : Wright Bristol, [s.d.].

HUGGINS, D. ; *et al.*, Teniases. **Pediatr. Moderna.** v. 24, n. 6, p. 251-256, set./out. 1989.

JIMENEZ, R. ;*et al.*, Estudio retrospectivo de cisticercosis cerebral en el hospital San Juan de Dios. **Neuroeje.** v. 3, n. 2, p. 43-51, 1985.

KALIL, R.M. Situação do complexo teniase humana e cisticercose no Brasil. **Comum. Cien. da Faculdade de Med. Vet. e Zoo. da Univ. de São Paulo.** v.8, p.227-229, 1984.

KAMINSKY, R. G. Teniasis-cysticercosis in Honduras. **Trans. Roy Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 85, n. 4, p. 531-534, 1991.

KEILBACH, N. M.; ALUJA, A. S. de; SARTI-GUTIERREZ, E. A programme to control teniasis-cysticercosis (*T. solium*) : experiences in a Mexican vilage. **Acta Leidensia**. v. 57, n. 2, p. 181-189, 1989.

KIKWAWILA STUDY GROUP. **Qualitative research methods** : teaching materials from a TDR worshop. World Health Organization : [S.I.], 1994.

KYVSGAARD, N.C; *et al.* A case- control study of risk factors in light *Taenia saginata* cysticercosis in Danish cattle. **Acta Vet. Scand.** 32, 243-252, 1991.

LAKATOS, E. M. **Sociologia geral**. 5. Ed. (rev. e ampl.). São Paulo: Atlas, 1985.

LAPAGE G. **Parasitologia veterinária**. México, D.F., Companhia Ed. Continental. 6ª ed.,1981, p. 259-285.

LARRALDE, C.; SOTELO, J.; MONTOIA, R.M. Immunodiagnosis of humam cysticercoses in cerebrospinal fluid. Antigens from murine *Taenia crassiceps* cysticerci effectively substitute those from porcine *Taenia solium*. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, Northfield, v.114, p. 495-498, 1999.

LARRALDE, C. ; *et al.*, Seroepidemiologia de la cisticercosis en México. **Salud Publica Mex.** v. 34, n. 2, p. 197-210, mar./abr. 1992.

LAWSON, R. Dispersal of taeniid eggs by blowflies. **New Zealand J. Zool.** v. 9, n. 1, p. 46-47, 1982.

LUKES, S.; *et al.* Sorological methods in the diagnosis of *C. bovis* in catle. In: **Internacional Symposium on Taeniasis/ Cysticercosis and Equinococcosis/ Hydatidosis**, 1985, Ceske Budejovice, v.2, p.56-66.

MACHADO, A.B.B.; PIALARISSI, C. S. M.; VAZ, A. J. Cisticercose humana diagnosticada em hospital geral, São Paulo, SP (Brasil). **Rev. Saúde Públ.** v. 22, n. 3, p. 240-244, jun. 1988.

MEDINA, M. T. *et al.*, Neurocysticercosis as the cause of late-onset epilepsy in Mexico. **Arch. Intern. Med.** v. 150, p. 325-327, Feb. 1990.

MAEDA, G.E. *et al.* Distribution of *Taenia saginata* cysts by muscle group in naturally infected cattle in Tanzania. **Preventive Vet. Medicine**. V.28, p.81-89, 1996.

MANHOSO, F.F.R. Prevalência de cisticercose bovina em animais abatidos no município de Tupã., SP. **Ver. Higiene Alimentar**. v.10, n.45, p.44-48, 1996.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal** (Aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29-3-52, alterado pelo Decreto nº 1.255, de 25-6-62). Brasília, 1980.

MINOZZO, J.C. **Prova de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) para imunodiagnóstico de cisticercose bovina.** Curitiba, 1997.120p. Tese de mestrado, Curso de medicina veterinária, Universidade Federal do Paraná.

MONTEIRO, L.; COELHO, T.; STOCKER, A. Neurocysticercosis – a review of 231 cases. *Infection*. v. 20, n. 2, p. 61-65, Mar./Apr. 1992.

MOORE, A. C.; *et al.*, Seroprevalence of cysticercosis in an orthodox Jewish community. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* v. 53, n. 5, p. 439-442, Nov. 1995.

MORENO, L.S.; FERNANDEZ, C. C.; CANCIO, S. F. **Aspectos epidemiológicos de las zoonosis.** Madrid : Ministerio de Sanidad Y Consumo, 1990.

NIETO, D. Historical notes on cysticercosis. In : FLISSER, A. *et al.*, (Ed.). **Cysticercosis : present state of knowledge and perspectives.** New York : Academic Press, 1982, p. 1-7.

NINO, F. L. Cysticercosis humana en la Republica Argentina. Estudio de una nueva observacion, *Prensa Médica Argentina*, v.37, p. 3040-3044, 1950.

ONYANGO-ABUJE, J. A . *et al.* Diagnosis of *Taenia saginata* cysticercosis in Kenya cattle by antibody and antigen ELISA. *Vet. Parasitol.* v.61, p.221-230, 1996.

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. **Epidemiologia y control de la teniasis/cisticercosis en America Latina.** Washington : OPS/OMS, 1994.

PALAPA *et al.* Comparacion de la reacción inflamatoria causada por el metacestodo de *Taenia solium* en músculos y encéfalos de cerdos. *Vet. Mex.*, 28 (1) : 1-5, 1997.

PAWLOWSKI, Z.; SCHULTZ, M. G. Taeniasis and cysticercosis (*Taenia saginata*). *Adv. Parasitol.* v. 10, p. 269-343, 1972.

PEREIRA, M.G. **Epidemiologia teoria e prática.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. p.358-376.

PERU. Grupo de trabalho sobre cisticercose no Peru. La comercialización de cerdos cisticercóticos en la sierra del Perú. *Bol. Oficina Sanit. Panam.* v. 116, n. 5, p. 427-434, mayo, 1994.

PESSÔA, S. B.; MARTINS, A. V. **Parasitologia médica.** 11. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1982.

RAMOS-KURI, M. ; *et al.*, Immunodiagnosis of neurocysticercosis. Disappointing performance of serology (enzyme-linked immunosorbent assay) an unbiased sample of neurological patients. *Arch. Neurol.* v. 49, p. 633-636, June, 1992.

REBGEL, R.; *et al.*, Cysticercotic encephalitis : a severe form in young females. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* v. 36, n. 2, p. 387-392, Mar. 1987.

REIFF, F. M. Importance of environmental health measures in the prevention and control of taeniasis and cysticercosis. In : ENCONTRO DO CONE SUL E SEMINÁRIO LATINO-AMERICANO SOBRE TENÍASE E CISTICERCOSE (1994 : Curitiba). **Anais...** Curitiba : Secretaria da Saúde do Paraná, 1994. p. 76-90.

REIS, D. O .*et al.* Cisticercose bovina: 15 anos de ocorrência em animais abatidos em Uberlândia, Minas Gerias, Brasil. 1979-1993. **Rev. Higiene Alimentar.** v.43, n.10, p.33-35, 1996.

REY, L. **Parasitologia.** Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1973.

REY, L. **Parasitologia** – Parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. 2. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1991.

REY, L. **As bases da parasitologia médica.** Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1992.

RODRIGUES, L. V. C. Inspeção sanitária e critério de julgamento da cisticercose bovina calcificada. Infecção leve. **Rev. Ciência Rural.** v. 23, n. 3, p. 339-344, 1993.

RODRÍGUEZ *et al.* Estudio cualitativo y cuantitativo de la presencia de posoncosferas de *Taenia solium* en el tejido muscular de cerdos com y sin cisticercosis. **Bol. Chil. Parasitol.** 50:50-7, 1995.

ROSAS, N.; SOTELO, J.; NIETO, D. ELISA in the diagnosis of neurocysticercosis. **Arch. Neurol.** v. 43, p. 353-356, Apr. 1986.

RUBIO, A. A.; NAZAR, N. Neurocysticercosis en el Hospital Escuela. **Rev. Med. Hondureña.** v. 57, n. 4, p. 246-260, oct./nov./dic. 1989

SALAZAR-SCHETTINO, P. M.; *et al.*, Investigación de outro probable mecanismo de infección en la cisticercosis. I . informe de los hallazgos preliminares. **Arch. Invest. Méd. (Méx.).** v. 15, p. 205-213, 1984.

SALAZAR-SCHETTINO, P. M.; HARO-ARTEGA, I. de. Biología del binomio teniasis-cisticercosis. **Bol. Chil. Parasitol.** v. 45, n. 3 e 4, p. 73-76, jul./dic. 1990.

SALAZAR- SCHETTINO, B.; *et al.*, Neurocysticercosis y medicina ocupacional. **Bol. Chil. Parasitol.** v. 45, n. 1 e 2, p. 8-12, ene./jun. 1990.

SANTOS, I.F. & FUKUDA, R.T. Cisticercose cerebral bovina detectada em inspeção em matadouros. **Ver. Científica.** v.6, n.1, p.143-145, 1978.

SANTOS, I.F. O *Cysticercus bovis* (forma larva da *Taenia saginata*) pode infectar o homem? **Rev. Higiene Alimentar.** V.10, n.44, p.13-14, 1996.

SCHANTZ, P. M.; *et al.*, Neurocysticercosis in an orthodox Jewish community in New York city. **New Eng. J. Med.** v. 327, n. 10, p. 692-695, Sept. 1992.

SCHANTZ, P. M.; *et al.*, La erradicabilidad potencial de la teniasis y la cisticercosis. **Bol. Oficina Sanit. Panam.** v. 116, n. 5, p. 465-469, 1994.

SCHENONE, H.; *et al.*, Epidemiology of human cysticercosis in Latin America. In : FLISSER, A. *et al.*, (Ed.) **Cysticercosis : present state of knowledge and perspectives**. New York : Academic Press, 1982, p. 25-38.

SCHENONE, H.; ROJAS, N. Epidemiologia de la cisticercosis en bovinos y porcinos en Chile. Tendencia de las tasas de prevalencia, por regiones, en animales beneficiados en mataderos del país. 1977 – 1986. **Bol. Chil. Parasitol.** v. 43, n. 3-4, p. 66-67, jul./sept. – oct./dic. 1988.

SILVA-VERGARA, M. L.; *et al.*, Achados neurológicos e laboratoriais em população de área endêmica para teníase-cisticercose, Lagamar, MG, Brasil (1992-1993). **Rev. Inst. Med. trop. São Paulo.** v. 36, n. 4, p. 335-342, jul./ago. 1994.

SOTELO, J.; GUERRERO, V.; RUBIO, F. Neurocysticercosis : a new classification based on active and inactive forms. **Arch. Intern. Med.** v. 145, p. 442-445, Mar. 1985.

SOTELO, J.; ROSAS, N.; PALENCIA, G. Freezing of infested pork muscle kills cysticerci. **J. Am. Med. Assoc.** v. 256, n. 7, p. 893-894, Aug. 1986.

SOTELO, J. E. Cysticercosis. In : JOHNSON, R. T. (Ed.) **Current therapy in neurologic disease**. Philadelphia : B. C. Decker, 1987 a, p. 114-117.

SOTELO, J. E. Neurocysticercosis. In : KENNEDY, P. G. E.; JOHNSON, R. T. (Ed.) **Infections of the nervous system**. London : Butterworth, 1987b, p. 145-155.

SOTELO, J.; MARIN, C. Hydrocephalus secondary to cysticercotic arachnoiditis. A long-term follow-up review of 92 cases. **J. Neurosurg.** v. 66, p. 686-689, May, 1987.

SOULSBY, E.J.L. **Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals**. London, Bailliere Tindall, 6ª ed., 1968, 824p.

SOUZA, R.M. *et al.* A importância do Serviço de Inspeção Federal na vigilância sanitária de alimentos – Cisticercose bovina. **Rev. Higiene Alimentar.** v.11, n.48, p.19-21, 1997.

SPIEGEL, M.R. **Estatística**. São Paulo: McGraw-Hill, 1976. 580p.

TAKAYANAGUI, O. M.; *et al.*, Notificação compulsória da cisticercose em Ribeirão Preto – SP. **Arq. Neuropsiquiatria** v. 54, n. 4, p. 557-564, 1996.

TEILELBAUM, G. P. *et al.*, MR imaging of neurocysticercosis. **Am. J. Roentgenol.** v. 153, n. 4, p. 857-866, Oct. 1989.

THOMAZ-SOCCOL V.; PAULINO R.C.; CASTRO E.A. Helminth eggs viability in sewage and biosolids sludge in Curitiba, Parana, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 40: 829-836, 1997.

THOMAZ-SOCCOL V.; PAULINO R.C.; CASTRO E.A. Eficácia dos diferentes processos de tratamento do lodo na redução da viabilidade de ovos de helmintos. *SANARE*, 8:24-32, 1997.

THOMAZ-SOCCOL V.; PAULINO R.C.; CASTRO E.A. Agentes Patogênicos: Helmintos e Protozoários em biossólido. In: *Reciclagem de biossólidos, Transformando problemas em soluções*, editores Andreoli C, Fernandes F, Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR), CDD 628.36, 1999.

THOMAZ-SOCCOL V.; PAULINO R.C. Riscos de contaminação do agrossistema com parasitos pelo uso do lodo de esgoto. In: Bettiol e Camargo (ed.) *Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto*, 1 edição, Empresa Brasileira de Pesquisa - Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, p. 245-258, 2000.

THOMAZ-SOCCOL V.; PAULINO R.C.; CASTRO E.A. Metodologia para análise parasitológica em lodo e em esgoto. In: *Manual para análises Microbiológicas e Parasitológicas em Reciclagem agrícola de lodo de esgoto*. Andreoli & Bonnet, 2ª edição, Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR), 2000.

THORNTON, H. *Compêndio de inspeção de carnes*. Rio de Janeiro : FARMOP, 1969.

THURN, J. R. Neurocysticercosis and possible sex-related severity of inflammatory reaction. *Arch. Intern. Med.* v. 148, p. 2689, Dec. 1988.

TSUNG, J., TSUNG, S. S.; CHOLOVSKY, S. Cerebral cysticercosis. *Indiana Med.* v. 79, n. 7, p. 600-602, July, 1986.

UNGAR, M. L.; GERMANO, P. M. L. Prevalência da cisticercose bovina no Estado de São Paulo (Brasil). *Rev. Saúde Públ.* v. 26, n. 3, p. 167-172, jun. 1992.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Biblioteca Central. *Normas para apresentação de trabalhos*. 5. Ed. Curitiba : Ed. da UFPR, 2000. 10v.

VAZ, A. J.; *et al.*, Frequência de indivíduos com anticorpos séricos anti- *Cysticercus cellulosae* em cinco municípios do Estado de São Paulo. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* v. 23, n. 2, p. 97-99, abr./jun. 1990.

VAZ, A. J.; NAKAMURA, P.M.; BARRETO, C.C. Immunodiagnosis of human neurocysticercosis – use of heterologous antigenic particles (*Cysticercus longicollis*) in indirect immunofluorescence test. *Serodiagnosis and Immunoth. Infect. Disease*. V.8, p. 157-161, 1997.

VELASCO-SUÁREZ, M.; BRAVO-BECHERELLE, M. A.; QUIRASCO, F. Human cysticercosis : medical-social implications and economic impact. In : FLISSER, A.; *et al.*, *Cysticercosis : present state and economic impact*. In : FLISSER, A.; *et al.*, *Cysticercosis : present state of knowledge and perspectives*. New York: Academic Press, 1982, p. 47-51.

VERONESI, R.; FRANÇA- NETTO, A. S.; FOCACCIA, R. Cisticercose. In : VERONESI, Ricardo. **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8. Ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1991.

VIANNA, L. G.; *et al.*, Estudo soroepidemiológico da cisticercose humana em Brasília, Distrito Federal. **Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.** v. 19, n. 3, p. 149-156, jul./set. 1986.

VICELLO, D. Desconocimiento de la epidemiologia de la cisticercosis en Mexico. **Salud Publica Mex.** v. 25, n. 3, p. 301-305, mayo/jun. 1983.

WALTHER, M.; KOSKE, J.K. *Taenia saginata* cysticercosis: a comparison of routine meat inspection and carcase dissection results in calves. **Vet. Rec.** 106: 401-402, 1980.

WOODHOUSE, E.; FLISSER, A; LARRALDE, C. Soroepidemiology of human cisticercosis in Mexico. In : FLISSER, A. *et al.*, (Ed). **Cysticercosis** : present state of knowlege and perspectives. New York : Academic Press, 1982, p. 11-23.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines on studies in environmental epidemiology**. Geneva, 1983.

ZAMPINI, L.M. Cisticercose bovina no Paraná no período de 1982 a 1988. **Rev. Higiene Alimentar.** v. 8, n. 30, p. 24-25, 1994.

ZENTENO-ALANIS, G. H. A classification of human cysticercosis. In : FLISSER, A. *et al.*, (Ed.) **Cysticercosis** : present state of knowledge and perspectives. New York : Academic Press, 1982, p. 107-126.

ANEXOS

ANEXO 1 - FIXAÇÃO, CONSERVAÇÃO, COLORAÇÃO E MONTAGEM DE LÂMINAS DE CISTICERCOS

1. FIXAÇÃO

As formas imaturas, podem ser, depois de desencistadas, trabalhadas como os adultos. Os cisticercos, devem ser desinvaginados, colocando-os em estufa a 37°C após uma pequena incisão no cisto. Após a montagem das lâminas, os cisticercos são fixados com formol acético (líquido de Railliet e Henry).

2. CONSERVAÇÃO

Os cisticercos fixados com formol acético podem permanecer nesta solução fixadora que também é conservadora.

3. COLORAÇÃO E MONTAGEM

Após fixação devem ser corados. A coloração pode ser de dois tipos:

Progressivo – diluição excessiva do corante, onde o parasita fica por bastante tempo e não se usa diferenciados.

Regressivo – o corante não é diluído ou pouco diluído. Cora-se em excesso para depois remover com diferenciador (álcool clorídrico 70 a 0,5%).

- Coloração pelo Carmim (Carmim Acético de Semichon, Carmim Clorídrico e Carmalúmen de Mayer).

Seqüência:

- a) álcool 50 GL – 5 minutos
- b) álcool 70 GL – 5 minutos
- c) Carmim (até corar fortemente)
- d) Diferenciar em álcool 70 com 50 ml de ácido clorídrico/litro
- e) Lavar em álcool 70 GL
- f) Álcool 80 GL – 5 minutos
- g) Álcool 90 GL – 5 minutos

- h) Clarificar em Creosoto de Faya por 24 horas
- i) Lavar em xilol
- j) Montar entre lâmina e lamínula com Bálsamo de Canadá diluído em xilol.

Fórmulas:

Solução Fisiológica

Água destilada	1000 ml
Cloreto de Sódio	9 ml

Líquido de Railliet e Henry

Formol	5 ml
Acido Acético glacial	2 ml
Solução Fisiológica	93 ml

Carmim Clorídrico

Carmim	5 g
Acido clorídrico	5 ml
Água destilada	5 ml
Álcool a 90 GL	200 ml

Modo de fazer: triturar o Carmim junto com o ácido e a água; juntar o álcool uma hora depois; ferver em banho-maria durante uma hora, completando o volume depois de resfriado para 200ml, com álcool 90 GL.

ANEXO 2 - PREPARO DOS REAGENTES PARA O MÉTODO *ELISA* PARA CISTICERCOSE

1. PROCEDIMENTOS / DESCRIÇÃO.

1.1. Preparamos uma solução tampão de carbonato – bicarbonato pH 9,6 (0,5M) utilizando a seguinte fórmula:

Na₂CO₃ ----- 0,318g

NaHCO₃ ----- 0,586g

Acertar o pH para 9,6

H₂O destilada ----- 200 ml

Armazenar em geladeira.

1.2. Diluir o antígeno liofilizado de *Cysticercus longicollis* próprio para ELISA em 1 ml de água destilada. A esse volume acrescentar o tampão carbonato – bicarbonato do item 1.1 de acordo com seu título impresso no rótulo do produto.

1.3. Distribuir 0,1 ml do item 1.2. nos pocinhos da microplaca fundo chato para sensibilizá-la. Incubar por 2 horas à temperatura ambiente e, após *over night* à 4°C tampada.

1.4. Lavar a microplaca com tampão de lavagem 6 vezes em lavador automático ou semi-automático. Para o sistema manual dar um intervalo de 30 segundos entre as lavagens. Para preparar o tampão de lavagem usar a seguinte fórmula:

Na CL ----- 8,5g

H₂O destilada – 1000 ml

Tween 20 ----- 0,5 ml

Armazenar em geladeira. Desprezar se turvar.

1.5. Inverter a placa sobre um papel absorvente e bater bem para retirar o excesso de umidade.

1.6. Embrulhar (em plástico ou papel alumínio) e levar ao freezer à -20°C. A placa já sensibilizada tem prazo de validade de 2 meses.

1.7. Para fazer as diluições dos soros e do conjugado, utilizar a fórmula abaixo no dia de fazer o exame:

NaCl ----- 8,00g

KH₂PO₄ ----- 0,20g

Na_2HPO_4 ----- 1,15g
 KCL ----- 0,20g
 H_2O destilada --- 1000 ml
 Acertar o pH para 7,4.

Desta solução para cada 100ml adicionar 0,05 ml de tween 20 e gelatina P.A. 0,5g. Dissolver em banho-maria à 40°C (+/- 15 minutos). Uso no dia, não armazenar.

1.8. Para a solução de substrato usar a fórmula: tampão citrato – fosfato pH 5,0 (0,2M).

Ácido cítrico anidro ----- 1,557g
 Na_2HPO_4 ----- 2,157g
 H_2O destilada q.s.p. ----- 300 ml
 Acertar o pH para 5,0.

Esta solução é difícil de acertar o pH. Armazenar em geladeira em frasco âmbar.

Validade de 2 semanas.

1.9. Pesar o OPD no dia do teste próximo ao momento de colocá-lo na placa em uma balança de alta precisão. Pesá-lo rapidamente (10mg) em frasco âmbar, adicionar 10 ml de tampão citrato – fosfato do item 1.8. e 10 µl de água oxigenada à 30% P.A. Este reagente se degrada com a luz. Deixar no escuro e, depois de usado, desprezá-lo. Este reagente é cancerígeno.

1.10. Preparar uma solução de ácido sulfúrico para bloquear a reação. Guardar em frasco âmbar e armazenar à T.A. estável por 4 meses. Fórmula:

H_2SO_4 ----- 196 ml
 H_2O destilada --- 1000 ml

1.11. Se algum dos reagentes acima se contaminar por fungos ou alterar o pH, preparar novamente e recentemente para que não interfira na reação.

ANEXO 3 - REAGENTES, VIDRARIA, EQUIPAMENTOS E MATERIAIS COMPLEMENTARES UTILIZADOS NA REALIZAÇÃO DA PROVA DE ENZIMOIMUNOENSAIO.

Reagentes:

- conjugado anti-IgG bovino ligado com peroxidase (marca Sigma, A-7414, lote 38H9245) para teste imunoenzimático
- OPD (o-Phenylenediamine dihidrocloride (2HCl) (Abbott laboratories)
- tween 80, tween 20, água oxigenada a 30 %, citrato de sódio, cloreto de sódio, gelatina, ácido fosfórico, etanol 95 %, carbonato de sódio, bicarbonato de sódio
- Antígeno heterólogo de *C. longicollis* para enzimoimunoensaio (Elisa) lote 01/99, produção de 06/99, com concentração protéica de 1,03 mg/ml, fabricado pelo CPPI-SESA-PR.

Vidraria:

- tubo descartável de poliestireno, 12 x 75mm (marca N.J. Plásticos, mod. tubo cristal), tubo de vidro 13 x 100 mm, frasco de vidro com capacidade para 05 ml, micropipetas 20 e 50µl
- pipeta de vidro com capacidade para 01, 05, 10 e 20 ml, bastão de vidro

Equipamentos:

- incubadora de placa (marca Microwell System, Incubator 500)
- lavadora automática (marca Microwell System Washer 400)
- leitor de microplaca (Microwell System Reader 210)
- pipeta automática de 25,50,100,200 e 250 µl
- pipeta multicanal com 12 canais, capacidade de distribuição 5 – 50 µl (marca Brand, Germany), pipeta multicanal com 12 canais, capacidade de distribuição 50 – 200 µl (marca Brand, Germany)
- balança de precisão, medidor de pH (marca Quimis, mod.Q-400-0), “freezer” vertical - 20°C, marca Consul, mod. Freezer Slim)

Materiais complementares:

- microplaca para método imunoenzimático com 96 orifícios (Marca Nunc, Intermed, mod. Maxishorp)
- seringa descartável de 10 ml (marca B-D), ponteira para pipeta automática 10 e 100 μ L (marca eppendorf), flaconete para 800 μ L (marca eppendorf), fita adesiva para identificação, etiqueta para identificação de frascos

ANEXO 4 – RESULTADO DO MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO EM 28 AMOSTRAS PARA O CÁLCULO DO CUT-OFF

TABELA 1 – Resultado do método imunoenzimático em amostras de soro bovino de animais negativos parasitologicamente para cisticercose e destinados para o cálculo do cut-off, utilizando antígeno *Cysticercus longicollis*, Curitiba, Paraná, Brasil, 2001.

AMOSTRA	ABSORBÂNCIA
1	0,270
2	0,146
3	0,185
4	0,204
5	0,221
6	0,286
7	0,311
8	0,234
9	0,176
10	0,232
11	0,176
12	0,199
13	0,120
14	0,193
15	0,202
16	0,163
17	0,116
18	0,124
19	0,091
20	0,170
21	0,188
22	0,229
23	0,261
24	0,119
25	0,134
26	0,197
27	0,176
28	0,178

ANEXO 5 – PREVALÊNCIA DA CISTICERCOSE POR MUNICÍPIO NOS ABATES REALIZADO NO SIF 1710

QUADRO 1 . Prevalência da cisticercose por município, nos abates no SIF 1710, no período de julho a dezembro de 2000.

Municípios	Nº de animais	Animais positivos	Prevalência (%)
Adrianópolis	464	8	1,72%
Alm. Tamandaré	20	1	5%
Altamira do PR	198	4	2,02%
Alto da Serra	20	0	0%
Alto do Amparo	7	0	0%
Alto Paranoia	40	0	0%
Amaporã	100	2	2%
Antonina	32	0	0%
Antônio Olinto	11	3	27,27%
Apucarana	40	1	2,50%
Arapoti	494	8	1,61%
Araucária	68	2	2,94%
Ariranha do Ivaí	216	2	0,92%
Balsa Nova	281	19	6,76%
Barra do Turvo	4	0	0%
Bituruna	41	1	2,43%
Boa Vent. S.Roque	51	1	1,96%
Bocaiuva do Sul	106	2	1,88%
Brasilândia	62	0	0%
Campina da Lagoa	232	4	1,72%
Campina do Simão	102	7	6,86%
Campo do Tenente	55	3	5,45%
Campo Largo	95	8	8,42%
Campo Magro	27	1	3,70%
Campo Mourão	300	8	2,66%
Cândido de Abreu	143	10	6,99%
Candói	1140	47	4,12%
Cantaduas	96	5	5,20%
Capitão	20	2	10%
Carambei	70	3	4,28%
Carlópolis	195	11	5,64%
Cascavel	120	3	2,50%
Castro	517	14	2,70%
Cerro Azul	353	14	3,96%
Chopinzinho	116	0	0%
Cidade Gaúcha	18	0	0%
Congonhas	20	0	0%
Cons. Mairinck	20	0	0%
Curiuva	147	7	4,76%
Diamante D oeste	100	1	1%
Douradina	62	3	4,80%
Doutor Ulisses	15	1	6,66%

continuação

Espigão do Iguaçu	20	0	0%
Faz. Rio Grande	12	0	0%
Fernandes Pinheiro	157	7	4,45%
Foz do Jordão	87	6	6,89%
Goioxim	236	6	2,54%
Guaporema	18	0	0%
Guaraniaçu	520	9	1,73%
Guarapuava	1171	36	3,07%
Guaratuba	58	0	0%
Honório Serpa	558	17	3,04%
Ibaiti	252	10	3,96%
Iguaraçu	20	0	0%
Imbituva	38	3	7,89%
Ipiranga	81	2	2,46%
Irati	80	0	0%
Jaguaraíva	20	0	0%
Japira	20	2	10%
Jardim Alegre	240	5	2,08%
Joaquim Távora	92	2	2,17%
Jundiá do Sul	82	3	3,65%
Lapa	78	5	6,41%
Laranjal	176	1	0,56%
Laranjeiras do Sul	275	10	3,62%
Loanda	100	3	3%
Luisiana	54	1	1,85%
Mandirituba	14	0	0%
Mangueirinha	56	1	1,78%
Manoel Ribas	193	10	5,18%
Maria Helena	18	0	0%
Marquinho	114	1	0,87%
Mato Rico	59	1	1,69%
Nova Aliança Ivaí	121	3	2,47%
Nova Cantu	139	2	1,43%
Nova Laranjeiras	1034	23	2,22%
Ortigueira	77	3	3,89%
Palmeira	1442	63	4,36%
Palmital	1079	29	2,68%
Paraíso do Norte	36	3	8,33%
Paranavaí	1272	56	4,46%
Paulo Fonseca	20	1	5%
Paulo Frontin	42	3	7,14%
Pien	38	1	2,63%
Pinhalão	74	0	0%
Pinhão	320	11	3,43%
Piraí do Sul	588	15	2,55%
Pitanga	97	6	6,18%
Planaltina	885	14	1,58%
Planaltina do Pr	127	5	3,93%
Ponta Grossa	609	19	3,11%
Porto Amazonas	47	3	6,38%
Porto Barreiro	365	4	1,09%
Porto Rico	337	9	2,67%
Prudentópolis	249	3	1,20%
Quatigua	40	2	5%

continuação

Querência Norte	144	2	1,38%
Quinta do Sol	160	5	3,12%
Reserva	381	18	4,72%
Reserva do Iguaçu	160	3	1,87%
Ribeirão Claro	108	7	6,48%
Ribeirão do Pinhal	20	0	0%
Rio Bonito	19	0	0%
Rio Bonito Iguaçu	62	3	4,83%
Rio Branco do Sul	83	4	4,81%
Rio Branco Iguaçu	99	5	5,05%
Rio Branco do Ivaí	22	2	9,09%
Rosário do Ivaí	22	2	9,09%
Salgado Filho	18	0	0%
Salto do Itararé	311	11	3,53%
Salto do Paranoia	21	2	9,52%
Santa Fé	20	0	0%
Santa Mônica	100	1	1%
São Carlos Ivaí	40	1	2,50%
São Jorge D oeste	20	1	5%
São José Boa Vista	70	4	5,71%
São José Pinhais	119	5	4,20%
São Mateus Sul	220	11	5%
São Miguel Iguaçu	200	7	3,50%
São Pedro do Pr	20	0	0%
São Pedro Iguaçu	58	0	0%
Sapopema	237	5	2,10%
Saudades Iguaçu	95	11	11,57%
Senges	99	3	3,03%
Siqueira Campos	315	8	2,53%
Sta Mª do Oeste	277	11	3,97%
Sta. Isabel do Ivaí	32	1	3,12%
Sto. Ant. da Platina	21	1	4,76%
Tamboara	70	3	4,28%
Tapejara	40	3	7,50%
Teixeira Soares	591	21	3,55%
Tibagi	442	18	4,07%
Tijucas do Sul	40	1	2,50%
Tomazina	357	14	3,92%
Turvo	401	12	2,99%
União da Vitória	92	5	5,43%
Uniflor	400	12	3%
Ventania	150	1	0,66%
Vitorino	20	0	0%

ANEXO 6 – RESULTADO DO MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO EM 812 AMOSTRAS DE SORO BOVINO DE ANIMAIS POSITIVOS PARA CISTICERCOSE ABATIDOS NO SIF 1710

TABELA 1 – Resultado do método imunoenzimático em 278 amostras de soro bovino de animais positivos parasitologicamente para cisticercose viva no exame pós-morte, utilizando antígeno *Cysticercus longicollis*, Curitiba, Paraná, Brasil, 2001.

AMOSTRA	DENSIDADE ÓTICA	RESULTADO	
		NEGATIVO	POSITIVO
1	0,417		1
2	0,492		1
3	0,396		1
4	0,370		1
5	0,312		1
6	0,939		1
7	0,422		1
8	0,713		1
9	0,491		1
10	0,330		1
11	0,529		1
12	0,326		1
13	0,347		1
14	0,565		1
15	0,128	1	
16	0,275	1	
17	0,485		1
18	0,682		1
19	0,530		1
20	0,296		1
21	0,410		1
22	0,763		1
23	0,342		1
24	0,641		1
25	0,562		1
26	0,498		1
27	0,527		1
28	0,620		1
29	0,363		1
30	0,631		1
31	0,758		1
32	0,218	1	
33	0,831		1
34	0,397		1

Continuação

35	0,376		1
36	0,287	1	
37	0,556		1
38	0,962		1
39	0,332		1
40	0,097	1	
41	0,663		1
42	0,432		1
43	0,786		1
44	0,524		1
45	1,029		1
46	0,626		1
47	0,709		1
48	0,784		1
49	0,271	1	
50	0,395		1
51	0,301		1
52	0,249	1	
53	0,398		1
54	0,648		1
55	0,549		1
56	0,565		1
57	0,557		1
58	0,284	1	
59	0,347		1
60	0,402		1
61	0,371		1
62	0,565		1
63	0,274	1	
64	0,379		1
65	0,489		1
66	0,081	1	
67	0,554		1
68	0,514		1
69	0,497		1
70	0,630		1
71	0,250	1	
72	0,715		1
73	0,382		1
74	0,572		1
75	0,651		1
76	0,520		1
77	0,578		1
78	0,528		1
79	0,240	1	
80	1,463		1
81	0,841		1
82	0,358		1

continuação

83	0,304		1
84	0,304		1
85	0,164	1	
86	0,602		1
87	0,233	1	
88	0,425		1
89	0,291	1	
90	0,145	1	
91	0,187	1	
92	0,356		1
93	0,262	1	
94	0,482		1
95	0,446		1
96	0,555		1
97	0,427		1
98	0,314		1
99	0,198	1	
100	0,359		1
101	0,514		1
102	0,395		1
103	0,475		1
104	0,495		1
105	0,169	1	
106	0,425		1
107	0,418		1
108	0,317		1
109	0,370		1
110	0,250	1	
111	0,299		1
112	0,373		1
113	0,358		1
114	0,323		1
115	0,230	1	
116	0,617		1
117	0,335		1
118	0,482		1
119	0,373		1
120	0,325		1
121	0,375		1
122	0,241	1	
123	0,513		1
124	0,485		1
125	0,501		1
126	0,725		1
127	0,855		1
128	0,297		1
129	0,194	1	
130	0,329		1

Continuação

131	0,332		1
132	0,445		1
133	0,456		1
134	0,781		1
135	0,197	1	
136	0,086	1	
137	0,578		1
138	0,254	1	
139	0,525		1
140	0,467		1
141	0,202	1	
142	0,198	1	
143	0,312		1
144	0,206	1	
145	0,180	1	
146	0,215	1	
147	0,262	1	
148	0,457		1
149	0,276	1	
150	0,283	1	
151	0,567		1
152	0,549		1
153	0,641		1
154	0,632		1
155	0,542		1
156	0,155	1	
157	0,267	1	
158	0,412		1
159	0,729		1
160	0,310		1
161	0,481		1
162	0,283	1	
163	1,061		1
164	0,594		1
165	0,451		1
166	0,592		1
167	0,276	1	
168	0,686		1
169	0,377		1
170	0,331		1
171	0,354		1
172	0,357		1
173	0,251	1	
174	0,589		1
175	0,673		1
176	0,471		1
177	1,099		1
178	1,059		1

Continuação

179	1,321		1
180	1,348		1
181	0,865		1
182	0,895		1
183	0,198	1	
184	0,402		1
185	0,279	1	
186	0,391		1
187	0,434		1
188	0,456		1
189	1,098		1
190	0,254	1	
191	0,583		1
192	0,544		1
193	0,549		1
194	0,382		1
195	0,551		1
196	0,467		1
197	0,381		1
198	0,510		1
199	0,532		1
200	0,331		1
201	0,514		1
202	0,296		1
203	0,207	1	
204	0,623		1
205	0,351		1
206	0,520		1
207	0,791		1
208	1,095		1
209	0,515		1
210	1,020		1
211	0,632		1
212	1,308		1
213	0,451		1
214	0,396		1
215	0,493		1
216	0,473		1
217	0,642		1
218	0,477		1
219	0,765		1
220	0,537		1
221	0,484		1
222	0,360		1
223	0,484		1
224	1,084		1
225	0,261	1	
226	0,385		1

Continuação

227	0,605		1
228	0,204	1	
229	0,429		1
230	0,511		1
231	0,458		1
232	0,588		1
233	0,542		1
234	0,262	1	
235	0,358		1
236	0,308		1
237	0,464		1
238	0,698		1
239	0,805		1
240	1,117		1
241	0,760		1
242	0,603		1
243	0,566		1
244	0,531		1
245	0,440		1
246	0,616		1
247	1,177		1
248	0,422		1
249	0,526		1
250	0,467		1
251	0,616		1
252	0,843		1
253	0,614		1
254	0,816		1
255	0,678		1
256	0,572		1
257	1,081		1
258	0,950		1
259	0,586		1
260	1,056		1
261	1,020		1
262	0,745		1
263	0,968		1
264	1,086		1
265	0,971		1
266	0,294	1	
267	0,945		1
268	0,269	1	
269	0,342		1
270	0,174	1	
271	0,248	1	
272	0,395		1
273	0,660		1
274	1,027		1

Continuação

275	0,905		1
276	0,937		1
277	1,241		1
278	0,504		1
TOTAL		51	227

TABELA 2 – Resultado do método imunoenzimático em 168 amostras de soro bovino de animais positivos parasitologicamente para cisticercose calcificada no exame pós-morte, utilizando antígeno *Cysticercus longicollis*, Curitiba, Paraná, Brasil, 2001.

AMOSTRA	DENSIDADE ÓTICA	RESULTADO	
		NEGATIVO	POSITIVO
1	0,436		1
2	0,366		1
3	0,487		1
4	0,431		1
5	0,703		1
6	0,506		1
7	0,697		1
8	0,348		1
9	0,521		1
10	0,643		1
11	0,335		1
12	0,581		1
13	0,630		1
14	0,249	1	
15	0,832		1
16	0,185	1	
17	0,736		1
18	0,204	1	
19	0,725		1
20	0,663		1
21	0,457		1
22	0,369		1
23	0,377		1
24	0,687		1
25	0,564		1
26	0,605		1
27	0,470		1
28	0,423		1
29	0,471		1
30	0,826		1
31	0,363		1
32	0,778		1
33	0,767		1

Continuação

34	0,392		1
35	0,685		1
36	0,313		1
37	0,292	1	
38	0,438		1
39	0,315		1
40	0,397		1
41	0,549		1
42	0,779		1
43	0,225	1	
44	0,412		1
45	0,496		1
46	0,334		1
47	0,225	1	
48	0,392		1
49	0,236	1	
50	0,720		1
51	0,552		1
52	0,634		1
53	0,547		1
54	0,408		1
55	0,323		1
56	0,609		1
57	0,616		1
58	0,080	1	
59	0,452		1
60	0,415		1
61	0,380		1
62	0,544		1
63	0,533		1
64	0,392		1
65	0,351		1
66	0,416		1
67	0,306		1
68	0,292	1	
69	0,918		1
70	0,353		1
71	0,261	1	
72	0,739		1
73	0,295		1
74	0,211	1	
75	0,384		1
76	0,531		1
77	0,675		1
78	0,501		1
79	0,633		1
80	0,241	1	
81	0,413		1
82	0,560		1

continuação

83	0,483		1
84	0,594		1
85	0,416		1
86	0,484		1
87	0,577		1
88	0,224	1	
89	0,175	1	
90	0,619		1
91	0,384		1
92	0,428		1
93	0,863		1
94	0,281	1	
95	0,648		1
96	0,432		1
97	0,187	1	
98	1,352		1
99	0,954		1
100	0,982		1
101	0,394		1
102	0,296		1
103	0,603		1
104	0,812		1
105	0,263	1	
106	0,483		1
107	0,381		1
108	0,434		1
109	0,326		1
110	0,217	1	
111	0,286	1	
112	0,393		1
113	0,264	1	
114	0,373		1
115	0,415		1
116	0,725		1
117	0,621		1
118	0,497		1
119	1,069		1
120	0,957		1
121	0,959		1
122	0,367		1
123	0,319		1
124	0,133	1	
125	0,678		1
126	0,810		1
127	0,347		1
128	0,284	1	
129	0,527		1
130	0,411		1
131	0,212	1	

continuação

132	0,401		1
133	0,483		1
134	0,571		1
135	0,989		1
136	0,548		1
137	0,240	1	
138	0,427		1
139	0,309		1
140	0,370		1
141	0,339		1
142	0,562		1
143	0,390		1
144	0,382		1
145	0,402		1
146	0,542		1
147	0,666		1
148	1,044		1
149	0,390		1
150	0,858		1
151	0,711		1
152	1,028		1
153	0,740		1
154	1,007		1
155	0,382		1
156	0,525		1
157	0,419		1
158	0,543		1
159	0,327		1
160	0,738		1
161	0,090	1	
162	0,330		1
163	1,056		1
164	0,383		1
165	0,341		1
166	0,507		1
167	0,443		1
168	0,618		1
TOTAL		25	143

TABELA 3 – Resultado do método imunoenzimático em 383 amostras de soro bovino de animais positivos parasitologicamente para cisticercose caseosa no exame pós-morte, utilizando antígeno *Cysticercus longicollis*, Curitiba, Paraná, Brasil, 2001.

AMOSTRAS	DENSIDADE ÓTICA	RESULTADO	
		NEGATIVO	POSITIVO
1	0,265	1	
2	0,444		1
3	0,393		1
4	0,426		1
5	0,516		1
6	0,278	1	
7	0,133	1	
8	0,586		1
9	0,317		1
10	0,402		1
11	0,444		1
12	0,221	1	
13	0,264	1	
14	0,573		1
15	0,493		1
16	0,713		1
17	0,546		1
18	0,370		1
19	0,330		1
20	0,403		1
21	0,400		1
22	0,230	1	
23	0,496		1
24	0,581		1
25	0,646		1
26	0,675		1
27	0,224	1	
28	0,401		1
29	0,409		1
30	0,319		1
31	0,383		1
32	0,167	1	
33	0,309		1
34	0,501		1
35	0,572		1
36	0,616		1
37	0,183	1	
38	0,499		1
39	0,587		1
40	0,704		1
41	0,386		1
42	0,512		1

continuação

43	0,707		1
44	0,810		1
45	0,588		1
46	0,110	1	
47	0,778		1
48	0,574		1
49	0,492		1
50	0,688		1
51	0,258	1	
52	0,554		1
53	0,802		1
54	0,709		1
55	0,920		1
56	0,492		1
57	0,672		1
58	0,896		1
59	0,375		1
60	0,349		1
61	0,427		1
62	0,540		1
63	0,549		1
64	0,382		1
65	0,590		1
66	0,555		1
67	0,311		1
68	1,102		1
69	0,604		1
70	0,424		1
71	0,388		1
72	0,566		1
73	0,195	1	
74	0,392		1
75	0,274	1	
76	0,501		1
77	0,288	1	
78	0,765		1
79	0,667		1
80	0,470		1
81	0,709		1
82	0,407		1
83	0,381		1
84	0,439		1
85	0,542		1
86	0,566		1
87	0,325		1
88	0,150	1	
89	0,769		1
90	0,443		1
91	1,01		1

continuação

92	0,335		1
93	0,418		1
94	0,196	1	
95	0,434		1
96	0,397		1
97	0,173	1	
98	0,532		1
99	0,569		1
100	0,910		1
101	0,392		1
102	0,593		1
103	0,608		1
104	0,337		1
105	0,561		1
106	0,434		1
107	0,456		1
108	0,467		1
109	0,820		1
110	0,353		1
111	0,613		1
112	0,212	1	
113	0,359		1
114	0,704		1
115	0,167	1	
116	0,435		1
117	0,490		1
118	0,583		1
119	0,716		1
120	0,524		1
121	0,350		1
122	0,486		1
123	0,536		1
124	0,523		1
125	0,570		1
126	0,562		1
127	1,095		1
128	1,011		1
129	0,341		1
130	0,163	1	
131	0,412		1
132	0,473		1
133	0,324		1
134	0,212	1	
135	0,264	1	
136	0,181	1	
137	0,415		1
138	0,247	1	
139	0,220	1	
140	0,351		1

Continuação

141	0,453		1
142	0,230	1	
143	0,449		1
144	0,414		1
145	0,321		1
146	0,383		1
147	0,388		1
148	0,318		1
149	0,120	1	
150	0,396		1
151	0,478		1
152	0,536		1
153	0,532		1
154	0,332		1
155	0,343		1
156	0,388		1
157	0,681		1
158	0,539		1
159	0,413		1
160	0,309		1
161	0,318		1
162	0,960		1
163	0,338		1
164	0,842		1
165	0,578		1
166	0,279	1	
167	0,587		1
168	0,314		1
169	0,210	1	
170	0,608		1
171	0,540		1
172	0,320		1
173	0,761		1
174	0,889		1
175	0,661		1
176	0,401		1
177	0,761		1
178	0,541		1
179	0,725		1
180	0,577		1
181	0,487		1
182	0,410		1
183	0,220	1	
184	0,196	1	
185	0,519		1
186	0,301		1
187	0,393		1
188	0,535		1
189	0,009	1	

Continuação

190	0,814		1
191	0,516		1
192	0,384		1
193	0,485		1
194	0,588		1
195	0,697		1
196	0,932		1
197	0,437		1
198	0,441		1
199	1,036		1
200	0,539		1
201	0,450		1
202	0,369		1
203	0,328		1
204	0,123	1	
205	0,502		1
206	0,696		1
207	0,208	1	
208	0,404		1
209	0,743		1
210	0,219	1	
211	0,499		1
212	0,324		1
213	0,529		1
214	0,553		1
215	0,230	1	
216	0,305		1
217	0,388		1
218	0,258	1	
219	0,209	1	
220	0,573		1
221	0,487		1
222	0,491		1
223	1,548		1
224	1,250		1
225	0,995		1
226	1,441		1
227	0,568		1
228	0,101	1	
229	0,250	1	
230	0,194	1	
231	0,308		1
232	0,449		1
233	0,221	1	
234	0,345		1
235	0,458		1
236	0,250	1	
237	0,363		1
238	0,303		1

Continuação

239	0,576		1
240	0,736		1
241	0,978		1
242	0,294	1	
243	0,503		1
244	0,877		1
245	0,549		1
246	0,605		1
247	1,041		1
248	0,349		1
249	0,399		1
250	0,356		1
251	0,411		1
252	0,326		1
253	0,181	1	
254	0,417		1
255	0,343		1
256	0,448		1
257	0,362		1
258	0,473		1
259	0,327		1
260	0,461		1
261	0,670		1
262	0,647		1
263	0,497		1
264	0,293	1	
265	0,656		1
266	0,482		1
267	0,296		1
268	0,543		1
269	0,821		1
270	1,361		1
271	0,918		1
272	0,677		1
273	0,292	1	
274	0,932		1
275	0,757		1
276	0,853		1
277	0,303		1
278	0,417		1
279	0,439		1
280	0,523		1
281	0,210	1	
282	0,511		1
283	0,819		1
284	0,491		1
285	0,495		1
286	0,207	1	
287	0,344		1

Continuação

288	0,310		1
289	0,526		1
290	0,528		1
291	0,634		1
292	0,743		1
293	0,468		1
294	0,584		1
295	1,208		1
296	0,889		1
297	1,039		1
298	0,273	1	
299	0,351		1
300	0,367		1
301	0,548		1
302	0,574		1
303	0,413		1
304	1,058		1
305	0,480		1
306	0,812		1
307	0,492		1
308	1,240		1
309	0,621		1
310	0,673		1
311	0,425		1
312	0,474		1
313	0,648		1
314	0,276	1	
315	0,229	1	
316	0,376		1
317	0,924		1
318	0,620		1
319	0,575		1
320	0,447		1
321	0,674		1
322	0,563		1
323	0,446		1
324	0,329		1
325	0,635		1
326	0,948		1
327	0,809		1
328	0,896		1
329	0,625		1
330	0,767		1
331	0,974		1
332	0,619		1
333	0,766		1
334	1,060		1
335	0,938		1
336	0,329		1

Continuação

337	0,311		1
338	0,931		1
339	0,288	1	
340	0,909		1
341	0,656		1
342	0,859		1
343	1,013		1
344	1,124		1
345	0,840		1
346	1,071		1
347	0,833		1
348	1,136		1
349	0,911		1
350	0,210	1	
351	0,387		1
352	0,405		1
353	0,582		1
354	0,220	1	
355	0,308		1
356	0,177	1	
357	0,267	1	
358	0,196	1	
359	0,918		1
360	1,259		1
361	0,183	1	
362	0,370		1
363	0,381		1
364	0,327	1	
365	0,542		1
366	0,395		1
367	0,446		1
368	0,599		1
369	0,455		1
370	0,654		1
371	0,663		1
372	0,660		1
373	1,027		1
374	0,905		1
375	0,399		1
376	0,738		1
377	0,090	1	
378	0,330	1	
379	1,056		1
380	0,937		1
381	1,241		1
382	0,383		1
383	0,504		1
TOTAL		58	308

ANEXO 7 – RESULTADO DO MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO DE 80 AMOSTRAS DE SORO BOVINO DO GRUPO TESTEMUNHA

TABELA 1 : Resultado do método imunoenzimático em amostras de soro bovino de animais parasitologicamente negativos para cisticercose no exame pós-morte, utilizando *Cysticercus longicollis*, Curitiba, Paraná, Brasil, 2001.

AMOSTRA	ABSORBÂNCIA (D.O)	RESULTADO	
		Negativo	Positivo
1	0,109	1	
2	0,478		1
3	0,462		1
4	0,020	1	
5	0,027	1	
6	0,123	1	
7	0,088	1	
8	0,137	1	
9	0,041	1	
10	0,059	1	
11	0,242	1	
12	0,010	1	
13	0,037	1	
14	0,041	1	
15	0,089	1	
16	0,124	1	
17	0,017	1	
18	0,031	1	
19	0,310		1
20	0,090	1	
21	0,327		1
22	0,059	1	
23	0,243	1	
24	0,242	1	
25	0,104	1	
26	0,210	1	
27	0,109	1	
28	0,088	1	
29	0,185	1	
30	0,044	1	
31	0,137	1	
32	0,037	1	
33	0,059	1	
34	0,072	1	
35	0,039	1	
36	0,133	1	
37	0,072	1	
38	0,227	1	
39	0,131	1	

Continuação

40	0,037	1	
41	0,039	1	
42	0,117	1	
43	0,261	1	
44	0,043	1	
45	0,025	1	
46	0,043	1	
47	0,132	1	
48	0,075	1	
49	0,120	1	
50	0,033	1	
51	0,066	1	
52	0,055	1	
53	0,030	1	
54	0,055	1	
55	0,113	1	
56	0,023	1	
57	0,180	1	
58	0,321		1
59	0,076	1	
60	0,158	1	
61	0,054	1	
62	0,164	1	
63	0,030	1	
64	0,315		1
65	0,032	1	
66	0,210	1	
67	0,066	1	
68	0,074	1	
69	0,026	1	
70	0,032	1	
71	0,056	1	
72	0,116	1	
73	0,157	1	
74	0,041	1	
75	0,041	1	
76	0,131	1	
77	0,037	1	
78	0,100	1	
79	0,063	1	
80	0,065	1	
TOTAL		74	6